8432-2
6
2-1

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. W. HEUBNER
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
BERLIN

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

BOSTON MEDICAL LIBRARY
MAY 8 1961

212. BAND

MIT 109 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1950/51

CATALOGUED
NOV 3 1952
D.C.B.

BOSTON
NOV 3 1952
MEDICAL LIBRARY

Druck der Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH
Printed in Germany

Inhalt des 212. Bandes.

Seite

Anschütz, Felix, s. **Wilhelm Schroeder.**

Appel, Ilse, s. **Oskar Eichler.**

—, s. **Oskar Eichler und Richard Schütze.**

Atanacković, D., und **G. W. Korting,** Beobachtungen zur Wirkung wäßriger Auszüge aus autolysierter Plazenta auf den Blutdruck und den Karotissinusreflex des Hundes. Mit 3 Textabbildungen 291

Bänder, Alfred, s. **Fritz Heim.**

Bauer, R., s. **V. Köhler** und **H. Müller.**

Berg, G., s. **A. Fleckenstein.**

Buchholz, Rudolf, Fritz Hahn und **Dietrich Plester,** Über die tyraminhemmende Wirkung der Antihistaminica. Mit 2 Textabbildungen. . . . 189

Büsing, K.-H., und **W. Gruchmann,** Untersuchungen über das Blut der Ratte 251

Coper, H., H. Herken und **J. Klempau,** Zur Pharmakologie und Toxikologie chlorierter Cyclohexane 463

Driesen, Wilhelm, Fritz Hahn und **Walter Rummel,** Elektrencephalographische Analyse der Wechselwirkung von Narkotikum und Analeptikum. Mit 4 Textabbildungen 243

Ehrlicher, Heinz, s. **Hans Friedrich Zipf.**

Eichler, Oskar, und **Ilse Appel,** Rhodanid als Mittel zur Untersuchung extrazellulärer Räume und seine Beweglichkeit im Körper des Hundes. Mit 2 Textabbildungen 472

—, und **Kurt Schmeiser,** Über die Aufnahme von Ortho- und Pyrophosphat durch die Herzmuskelzelle, geprüft mit Radiophosphor ^{32} P. Mit 4 Textabbildungen 255

—, **Richard Schütze** und **Ilse Appel,** Über die Aufnahme einiger grobdisperser Farbstoffe durch das isolierte Froschherz. Mit 4 Textabbildungen 268

Fischbach, Erich, Die Bildung von Hämiglobin (Methämoglobin) durch Plasmochin beim Menschen. Mit 3 Textabbildungen 284

Fleckenstein, A., Elektrophysiologische Studien zum Mechanismus des Nerven-Blocks durch Schmerzstoffe und Lokalanästhetika. Mit 3 Textabbildungen 416

—, und **G. Berg,** Weitere Untersuchungen über dehydrasenhemmende Gifte mit Triphenyltetrazoliumchlorid 184

Förster, Werner, Über die statistische Berechnung der Streuung von Stoffwechselwerten. Mit 1 Textabbildung 490

Frey, E., Die Drosselung der Glomeruli bei der Wasserdiurese. Mit 2 Textabbildungen 505

Gerlich, Norbert, s. **Rudolf Remy.**

Seite

Ginzel, K. H., Vergleichende Untersuchung einiger antikonvulsiv wirksamer Glyzeriniäther 331

Gruchmann, W., s. **K.-H. Büsing.**

Grupp, Marianne, Die Beeinflussung der Veratrinkontraktion durch Atropin, Azetylcholin, Physostigmin und Prostigmin. Mit 4 Textabbildungen . 221

Hahn, Fritz, s. **Rudolf Buchholz** und **Dietrich Plester.**

—, s. **Wilhelm Driesen** und **Walter Rummel.**

—, **Dietrich Plester** und **Willy Schild,** Zur Frage der toxischen Wirkung der Antihistaminica 311

Hartmann, Fritz, und **Fred Leuschner,** Versuche über die Wirkung lipotroper Substanzen bei der durch Tetrachlorkohlenstoffvergiftung erzeugten Fettleber des Hundes. Mit 3 Textabbildungen 167

Heim, Fritz, Zur Wirkungsweise intravenös gegebenen Novocains und verwandter Verbindungen. Mit 4 Textabbildungen 277

—, und **Alfred Bänder,** Der Einfluß von Strophanthin auf die Vaguserregbarkeit des normalen und geschädigten Warmblüterherzens. Mit 2 Textabbildungen 456

Herken, H., s. **H. Coper** und **J. Klempau.**

—, und **Heinz-Otto Silbersiepe,** Zur Spaltung von Peptidbindungen in Proteinen durch Hypochlorit. Mit 11 Textabbildungen 205

Hoffmann, G., und **L. Lendle,** Kritisches zur Digitalisauswertung am Meerschweinchen 376

Holtz, Peter, Günther Kroneberg und **Hans-Joachim Schümann,** Über die sympathicomimetische Wirksamkeit von Herzmuskelextrakten. Mit 6 Textabbildungen 551

Hueck, Otto, Histologische Untersuchungen an Versuchstieren über die Wirkung hoher Dicumarol- und Tromexandosen auf die Leber und andere Organe 302

Junkmann, Karl, Eine neue Form parenteraler Arzneimittelanwendung. Mit 2 Textabbildungen 500

Jürgens, Rudolf, Über die Wirkung von „Persedon" und einigen anderen Schlafmitteln auf die Hämatopoese 440

Kärber, Gerhard, Über sogenanntes Oxydwachs 509

Klempau, J., s. **H. Coper** und **H. Herken.**

Köhler, V., R. Bauer und **H. Müller,** Der Einfluß von Stoffwechsel- und Zellgiften sowie Biokatalysatoren auf die Farbstoffphagocytose in vitro . 214

Kopf, Rudolf, Arnold Loeser und **Gerda Meyer,** Biologische Wirkungen der dreiwertigen Alkole 1, 2, 4-Butantriol und 1, 2, 3-Propantriol (Glyzerin). Mit 2 Textabbildungen 405

Korting, G. W., s. **D. Atanacković.**

Kroneberg, Günther, s. **Peter Holtz** und **Hans-Joachim Schümann.**

Laubender, Walther, und **Herbert Ruffert,** Über den Einfluß des Natriumthiosulfats auf die experimentelle akute Methanol- und Arsensäurevergiftung 366

—, und **Paul Schwamb,** Über den Einfluß des Natriumthiosulfats auf die experimentelle akute Anilin- und Nitrobenzolvergiftung 356

Lendle, L., s. **G. Hoffmann.**

Seite

Loeser, Arnold, s. **Rudolf Kopf** und **Gerda Meyer.**

Leuschner, Fred, s. **Fritz Hartmann.**

Meyer, Gerda, s. **Rudolf Kopf** und **Arnold Loeser.**

Müller, H., s. **V. Köhler** und **R. Bauer.**

Oelssner, Wolfgang, Studien über Farbstoffpermeabilität am isoliert schlagenden Froschherzen 195

Plester, Dietrich, s. **Rudolf Buchholz** und **Fritz Hahn.**

—, s. **Fritz Hahn** und **Willy Schild.**

Remy, Rudolf, und **Norbert Gerlich,** Methionin- und Zuckerwirkung auf die vergiftete Rattenleber. Mit 4 Textabbildungen 542

Riechert, Willi, Genese und Behandlung des toxischen Lungenödems . . 321

Ruf, Hugo, Eine einfache Atmungspumpe. Mit 3 Textabbildungen 352

Ruffert, Herbert, s. **Walther Laubender.**

Rummel, Walter, Zur Problematik der WARBURGschen Narkose-Theorie. Mit 4 Textabbildungen 177

—, s. **Wilhelm Driesen** und **Fritz Hahn.**

Schild, Willy, s. **Fritz Hahn** und **Dietrich Plester.**

Schmeiser, Kurt, s. **Oskar Eichler.**

Schroeder, Wilhelm, Die Verwendung des Vagusschlingenhundes für die Wertbestimmung hustenstillender Substanzen. Mit 3 Textabbildungen 433

—, und **Felix Anschütz,** Zur Kreislaufwirkung des Arterenols. Mit 3 Textabbildungen 230

Schümann, Hans-Joachim, s. **Peter Holtz** und **Günther Kroneberg.**

Schunk, Josef, Über die Wirkung zweier neuerer Nitratester auf den Blutdruck. Mit 2 Textabbildungen 297

Schütze, Richard, s. **Oskar Eichler** und **Ilse Appel.**

Schwamb, Paul, s. **Walther Laubender.**

Silbersiepe, Heinz-Otto, s. **Hans Herken.**

Verhandlungen der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft. Siebzehnte Tagung. Gehalten in Bad Nauheim am 12. April 1950.

A. Eröffnungsansprache 1
B. Referate 9
C. Demonstrationen 91
D. Einzelvorträge 93

Vidic, Ernst, Der Nachweis von Polamidon und Dolantin im Urin und ihre Trennung von Morphin. Mit 5 Textabbildungen 339

Wendhut, Günther, Chronaxiemetrische Untersuchungen am isolierten Ventrikel des Frosches über die Wirkung von Saponinen. Mit 1 Textabbildung 522

—, Chronaxiemetrische Untersuchungen der Erregbarkeitsverhältnisse am isolierten Ventrikel des Frosches unter Digitalis und anderen Muskelgiften 386

Zipf, Hans Friedrich, und **Heinz Ehrlicher,** Untersuchungen zum reflektorischen Charakter der toxischen Digitalisbradykardie. Mit 5 Textabbildungen. 529

A. Eröffnungsrede zur 17. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft

in Bad Nauheim am 12. April 1950.

W. Heubner (Berlin): Meine Damen und Herren! Die Zusammenkunft von Menschen gleichen Sinnes und gleichen Strebens in ihrer Lebensarbeit ist stets eine festliche Stunde. Daher ist es auch für mich ein erhebendes Gefühl, in meinen Altersjahren noch einmal die Glocke dieser Stunde anschlagen zu dürfen; für diese Gunst bin ich voll Dankes für den Vorstand unserer Gesellschaft, der diese Regelung unter den gegebenen Umständen für zweckmäßig hielt. Es mag sein, daß die feierliche Stimmung in einem solchen Augenblick um so tiefer ist, je länger man selbst in jenem Sinn und Streben befangen war und ist. Ich entsinne mich, daß ich mit viel kühlerem und eher skeptischem Sinn an der ersten Zusammenkunft deutscher Pharmakologen teilgenommen habe. Es war vor 48 Jahren in Straßburg unter dem Vorsitz von Oswald Schmiedeberg, der an dieser stolzen deutschen Universität von ihrem Anfang bis zu ihrem Ende gewirkt hat. Ich selbst war nur ein kleiner Doktorand in seinem Institut und konnte mir noch nicht allzuviel vorstellen unter den Persönlichkeiten, die mir damals zuerst begegneten: Kobert, Hans Horst Meyer, Gottlieb, Erich Harnack, Heffter, Carl Jakobi. Zwei Jahre später in Leipzig unter dem Vorsitz von Rudolf Boehm wußte ich schon besser Bescheid; in Erinnerung ist mir geblieben, wie damals der Assistent von Boehm, der junge Walther Straub, mit seinem Vortrag ein gewisses Aufsehen erregte — ich glaube, er handelte von der Rolle des aktiven Sauerstoffs bei sogenannten photodynamischen Wirkungen. Und wiederum drei Jahre später trafen sich die deutschen Pharmakologen in einer eigenen Sitzung auf dem internationalen Physiologenkongreß in Heidelberg, um Fragen des Unterrichts und auch künftiger Pharmakologentagungen zu erörtern. Die Meinungen waren nicht einheitlich: ich erinnere mich, daß Hans H. Meyer den Anschluß an die Physiologentagungen empfahl, während Harnack die Toxikologie und Balneologie als Teilgebiete der Pharmakologie geltend machte und damit Hans H. Meyers Vorschlag entgegentrat. Vielleicht waren solche Unstimmigkeiten schuld daran, daß vor dem ersten Weltkrieg keine weitere offizielle Zusammenkunft der deutschen Pharmakologen zustande kam.

Von jenem Heidelberger Kongreß wird Sie vielleicht noch interessieren, daß dort zwei junge Engländer, George Barger und Henry Dale über die Darstellung der wirksamen Substanz des Mutterkorns berichteten, des Ergotoxins. Danach stand Kobert auf und pries den gewaltigen Fortschritt, der durch diese Arbeit gegenüber zahlreichen früheren, auch Koberts eigenen Versuchen, erzielt worden sei, das wirksame Prinzip rein zu erhalten. Was würde er wohl heute sagen, wo wir durch Stoll wissen, daß auch jenes reine Ergotoxin noch keineswegs rein war, sondern in drei verschiedene Komponenten zu zerlegen ist, und daß es auch keineswegs das einzige wirksame Prinzip des Mutterkorns darstellt?

Ich spreche von diesen längst vergangenen Zeiten, weil mich die Vorstellung nicht verläßt, es könnte auch heute ein junger Mann unter uns sein, der abermals nach 48 Jahren, also 1998, einer deutschen Pharmakologentagung beiwohnt und vielleicht dann erzählen wird, wie rückständig wir 1950 waren.

Ich glaube, es ist gut, nie zu vergessen, daß die Wissenschaft ein Teil des großen Evolutionsprozesses ist, den uns die belebte Welt darbietet; sie ist keine feste

Ebene, um dauerhafte Lehrgebäude darauf zu errichten, sie ist ein Strom. „Uns hebt die Welle, verschlingt die Welle und wir versinken." Und doch gibt es wenig Besseres für die Dauer unseres Lebens, als in *diesem* Strom zu schwimmen. Mit eindrucksvollen Worten brachte dies SCHMIEDEBERG bei der Feier seines 70. Geburtstages 1908 vor einem imponierenden Kreis gelehrter Häupter des In- und Auslandes zum Ausdruck; sie haben sich mir gerade damals zu Beginn meiner eigenen akademischen Lehrtätigkeit unvergeßlich eingeprägt. Unbekümmert um Freud und Leid, sagte er etwa, unbekümmert um alle menschlichen Leidenschaften, unbekümmert um Revolutionen oder Kriege geht die Wissenschaft ihren steten ruhigen Gang über Länder und Zeiten, getreu dem einzigen Ziele, Blindheit durch Licht, Irrtum durch Wahrheit zu verdrängen. Als dieser Mann 1921 starb, war wirklich ein großer Krieg und eine Revolution über uns dahingegangen; dennoch fanden sich schon 1920 die deutschen Naturforscher und Ärzte wieder zusammen — *hier* in *Bad Nauheim*. Und hier war es, daß unsere Fachgenossen unter der Führung von HANS H. MEYER und WALTHER STRAUB die deutsche pharmakologische Gesellschaft gründeten, die also nun 30 Jahre alt ist. Zwar konnten Inflation, Wirtschaftskrisen, neue Revolution und neuer Krieg disturbare circulos nostros, doch sind wir zum 17. Male und wieder an unserer Gründungsstätte versammelt, die wir mit wahrer Herzenswärme begrüßen, der wir danken für die erneute freundliche Aufnahme, wie besonders ihren Vertretern, unserem Gastgeber, Herrn Kollegen HILDEBRANDT, nicht zuletzt dem Beherrscher dieses Hauses, Herrn Kollegen SCHÄFER. 1920 gab es diesen stattlichen Versammlungsraum noch nicht, freilich fanden wir auch in bescheidenerem Raume gut Platz. Von denen, die damals zugegen waren, ist nur eine kleine Zahl übrig; in 30 Jahren sind es viele, die die Welle verschlingt.

Seit unserer letzten Tagung verloren wir HANS GREMELS, der am 25. März 1949 im 53. Lebensjahre an schwerer Krankheit starb. 13 Jahre lang hat er als Assistent bei BORNSTEIN, TRENDELENBURG und STRAUB in Hamburg, Berlin und München, danach 12 weitere Jahre als Ordinarius in Marburg die Fachwelt erfreut durch klassisch angelegte und sehr ergebnisreiche Arbeiten. Die an der Quelle bei STARLING in London erlernte experimentelle Technik und das von BORNSTEIN gepflegte Interesse an Stoffwechselfragen wußte er in vorbildlicher Weise zu verbinden und weiter zu entwickeln. Auf „Herz und Nieren" ging sein forschender Sinn, der ungewöhnlich klar und konsequent über ein Leben hin Schritt für Schritt in die Probleme eindrang. Vom allgemeinsten Zusammenhang zwischen Stoffumsatz und Leistung kam er auf die Bedeutung der autonomen Innervation, des Azetylcholins und Adrenalins für diesen Zusammenhang, um schließlich zu münden bei dem gegenseitigen Einfluß verschiedener Nährstoffe im intermediären Stoffwechsel, was er als „Substratsteuerung" bezeichnete. Grundsätzliche Aufklärungen über die Wirkungsweise von Diureticis, Herzglykosiden, Insulin und Alkohol lagen auf diesem langen Wege, schließlich auch ein lebhaftes Interesse an den rhythmischen Schwankungen lebendiger Funktionen.

GREMELS war nicht weniger Physiologe als Pharmakologe. Seine Gedanken offenbarten eine Begabung eigener Prägung und es war wie ein Verhängnis, daß unerbittliche Krankheit gerade dem Kostbarsten, was er besaß, verderblich wurde. Sein Werk ist kaum davon berührt und in seinem ursprünglichen Wesen steht er vor uns als eine heitere, tief angelegte Natur, durchdringenden Verstandes, musikalisch und musisch, auch der Geisteswissenschaft aufgeschlossen. Was er geschaffen hat, bleibt uns ein Denkmal seines Namens.

Wo GREMELS wirkte, in Marburg, wurde vor 63 Jahren FRIEDRICH KÜLZ geboren, Sohn des Physiologen EDUARD KÜLZ. So trieb es auch ihn zunächst zur Physiologie als Assistenten von MAX RUBNER in Berlin, bei dem er auch promovierte. Der erste Weltkrieg und eine Erkrankung an Tuberkulose unterbrachen

seine Entwicklung. Nach Kriegsende erst, im Alter von 32 Jahren, wandte er sich der Pharmakologie zu als Assistent von RUDOLF BOEHM in Leipzig. Von Anfang an war sein Sinn auf letzte theoretische Fragen unseres Wissensgebietes gerichtet, insonderheit die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung, die er an verschiedenen, weit auseinanderliegenden anorganischen und organischen Substanzgruppen studierte. Vortreffliche naturwissenschaftliche, insonderheit chemische Kenntnisse gaben ihm die Grundlage für beharrliche Bemühungen, auf diesem dornigen Gebiete voranzukommen. Durch zwei Jahrzehnte erbrachte er immer wieder umfassendes und gedanklich verarbeitetes Material zu diesen Problemen, wenn er sich auch nicht ausschließlich darauf beschränkte. Ein Nebenprodukt seiner Studien war das Antispasmodicum *Sestron*. Mit Veröffentlichungen war er bewußt zurückhaltend, seine Ansprüche waren ebenso groß wie seine Bescheidenheit. Den allgemeinen Aufgaben unserer fachlichen Arbeit blieb er offen und willig zugewandt, nicht weniger den Aufgaben des akademischen Lehrers. 1926 übernahm er Lehrstuhl und Institut in Kiel, 1934 in Frankfurt. Überall war er sehr beliebt durch sein kluges, zuweilen leicht skeptisches, aber stets humorvolles Wesen. Er war von echtem liberalen oder — wie wir heute sagen — demokratischem Geiste erfüllt und war sich der Verantwortung bewußt, die diese Haltung in sich schließt. Im Sommer 1942 hatte ich das Glück, ihm in Gastein zu begegnen und manche unbeschwerte Stunde in freier Natur, auch mit Angehörigen seiner Familie, zu verbringen; dort ist mir am deutlichsten geworden, daß man ihn gern haben mußte. Allen, die ihn kannten, ist es ein Schmerz, daß er am 3. November 1949 dahinging, um nun auf dem Friedhof seiner alten Heimat Marburg auszuruhen.

Ganz in der Ferne von uns, in Genf, verstarb am 11. Januar 1950 im 68. Lebensjahr GÉZA MANSFELD, der wenige Jahre nach ihrer Gründung unserer Gesellschaft beitrat. In jungen Jahren atmete er die Luft des Wiener Instituts in seiner besten Blütezeit unter HANS HORST MEYER, später wurde er für Jahrzehnte Professor der Pharmakologie in Pècs und schließlich Professor der Physiologie in Budapest. Nach der neuesten politischen Umwälzung in Ungarn verließ er 1948 das Land, gesundheitlich schon nicht mehr ganz auf der Höhe, und verbrachte das Ende seines Lebens im Hause seiner Tochter. Von der großen Zahl seiner Arbeiten veröffentlichte er viele in deutscher Sprache. Sie befassen sich gleichfalls ebensoviel mit allgemeinen physiologischen wie mit eigentlich pharmakologischen Themen. Die Probleme des Stoffwechsels lagen auch ihm am Herzen und diese führten ihn zu einer vielfältigen Beschäftigung mit der Schilddrüse, besonders mit ihrem Einfluß auf die Körpertemperatur; er schrieb ihr die Bildung eines Stoffes zu, der dem Thyroxin entgegenwirkt, daher auch die Körpertemperatur senkt: „Thermothyrin". In einem Buch faßte er diese Forschungen zusammen. Für die narkotische Wirkung postulierte er ein sogenanntes „Alles- oder Nichts-Gesetz", was WINTERSTEINS Widerspruch herausforderte. Und vielen sonstigen pharmakologischen Fragen widmete der vielseitige Mann seine Aufmerksamkeit. Als eines warmen Freundes der deutschen Wissenschaft bewahren wir sein Gedächtnis.

Bereits vor unserer letzten Tagung verlor, ohne daß wir es damals erfuhren, die Firma C. F. Boehringer und Söhne in Waldhof ihren pharmakologischen Mitarbeiter Dr. med. FRITZ JOHANNESSOHN, der sich durch eigene Forschungsarbeiten, wie durch zahlreiche belehrende Aufsätze für Ärzte einen Namen gemacht hat. Allen Älteren unter uns sind seine Übersetzungen von WITHERINGS Monographie über Foxglove aus dem Jahre 1929 und eine zusammenfassende Darstellung über Chinin in der Allgemeinpraxis aus dem Jahre 1930 bekannt. Er verstarb am 21. Juni 1948 im Alter von nahezu 60 Jahren.

Nur 54 Jahre war der Chemiker Dr. GEORG SCHEUING, der Leiter der wissenschaftlichen Abteilung bei der Firma C. H. Boehringer Sohn in Ingelheim, als sein

Leben am 18. September 1949 zu Ende ging. Seine Verdienste und zugleich seine Beziehungen zu unserer Gesellschaft sind vor allem gekennzeichnet durch die Synthese des Lobelins und des Aludrins.

Am 10. Februar 1949 erlitt den Tod an den Folgen eines Autounfalles der Chemiker und Apotheker Dr. ing. ERICH NOLTE, der seit 1922 bei den Troponwerken (Dinklage & Co.) in Köln-Mülheim tätig war und seit 1930 ihre wissenschaftliche Abteilung geleitet hatte. An der Erforschung des Chemismus bei der Jodierung von Eiweißkörpern war er erfolgreich beteiligt.

Auch diesen drei bewährten Männern gebührt ein pietätvolles Gedenken.

Auf unserer vorigen Tagung in Düsseldorf hielt uns der Schweizer Chemiker HELFENSTEIN ein schönes Referat über die Chemie der Digitalisglykoside. Sein Manuskript blieb aus, und so fehlt es in unseren Verhandlungsberichten, wie überhaupt jede Notiz über dieses Referat. Nachdem er inzwischen verstorben ist, geziemt sich wohl für uns, ihm einen Gedanken der Trauer in Dankbarkeit zu schenken.

Wie viel inniger aber war unsere Bindung, wie viel heftiger reißt uns am Herzen der Schmerz um den, der eigentlich an dieser Stelle stehen sollte: OTTO RIESSER. Am 1. Dezember 1949 ward er uns entrissen durch einen Tod, der sein ganzes Wesen noch einmal besiegelte.

Der Laune des Schicksals hat es gefallen, mir zum zweiten Mal die Vertretung eines Vorsitzenden unserer Gesellschaft aufzuerlegen, der kurz vor der unter seiner Leitung vorbereiteten Tagung dahinging. Das erste Mal war es 1927 RUDOLF MAGNUS, der jüdischen Blutes, mit seiner unermüdlichen und höchst erfolgreichen Schaffenskraft, seiner Vaterlandsliebe und seiner reinen, heiteren Natur in Körper und Geist die bildhafte Widerlegung jener verhaßten Märchen und Dogmen des Nationalsozialismus war, genau wie OTTO RIESSER. Diesem war sein Name schon Verpflichtung: des Großvater gewaltige und gewichtige Stimme im Paulskirchenparlament, des Vaters Ruf zur Sammlung im Hansabund war für beide Männer Kennzeichen eines tiefen Verantwortungsgefühls weit über die persönliche Umwelt hinaus. Und wirklich war diese seltene Eigenschaft auch dem Sohn und Enkel eigen. Sein Lebensweg war nicht leicht. Schon früh machte ihm sein Gehör zu schaffen, doch ließ er sich dadurch nicht abhalten von sportlicher Betätigung, auch nicht vom Beitritt zu einer Heidelberger Burschenschaft, der er zeitlebens die Treue wahrte. In Heidelberg promovierte er auch zum Doktor in Chemie unter ALBRECHT KOSSEL.

Ich selbst begegnete ihm zuerst als Assistenten und jugendlichem Ehemann im gastlichen Hause des jovialen physiologischen Chemikers MAX JAFFÉ, der außerdem die Pharmakologie vertrat und tatsächlich beides erfolgreich meisterte; es war vor 40 Jahren bei Gelegenheit der Königsberger Naturforscherversammlung, auf der u. a. PAUL EHRLICH zum ersten Male über Salvarsan berichtete. RIESSER arbeitete damals in freundschaftlicher Verbundenheit mit ALEXANDER ELLINGER, besonders gefesselt durch die Problematik des Kreatins. In den folgenden Jahren erwarb er auch in der Medizin den Doktorgrad und die venia legendi für medizinische Chemie.

Im Frühjahr 1914 wurde die Universität Frankfurt gegründet mit ALEXANDER ELLINGER als Pharmakologen. Da war es auch für RIESSER an der Zeit, ihm zu folgen, und bald war er Privatdozent für Pharmakologie in Frankfurt. Aber der ausbrechende Krieg ließ seinem vaterländischen Empfinden keine Ruhe. Unter Nichtachtung seines Hördefektes setzte er seine Verwendung im Frontdienst durch, und so sah ich ihn zum zweiten Male, als er in Uniform zu einem Kursus an die Heeresgasschule kam, an der ich seit 1917 mit unterrichtete. Später waren es unsere Tagungen, die uns zusammenbrachten, und es war erstaunlich, wie immerfort

das innere Verständnis zunahm, je mehr die äußere Verständigung erschwert war. Nach dem Kriege erweiterte sich entsprechend RIESSERS Neigungen seine Frankfurter Dozentur auf das Gebiet der Physiologie, doch erhielt er 1921 die Professur für Pharmakologie in Greifswald, womit sich endgültig die äußere fachliche Zugehörigkeit entschied. 1928 ging er nach Breslau — nachdem es 1925 nahe daran gewesen war, daß er nach Frankfurt zurückberufen worden wäre; da er jedoch von Widerständen in der Fakultät wußte, ließ es der feinfühlige Mann nicht dazu kommen. In Breslau mußte er 1933 ausscheiden; wenige Jahre später zog er sich nach Oberursel zurück, ging von da zeitweilig in die Schweiz, 1939 ins holländische Exil, wo er bis zum Kriegsende weilte, von seiner Familie getrennt. Die Rückkehr dann war nicht triumphal: Seine Stellung in Frankfurt blieb weiterhin bescheidener, als seinem Werte und seiner nie nachlassenden Leistung entsprach. Als er den Tod vor Augen sah, war er nicht ohne Sorgen um die, die er zurückließ.

RIESSERS wissenschaftliches Lebenswerk bewegte sich 40 Jahre lang in großen Linien immer wieder um *eine* Achse, den quergestreiften Muskel; seit jenen frühen Studien über Kreatin, dessen sich später sein Schüler BRENTANO annahm, hatte es ihm der intime Chemismus des Muskels angetan und ihn suchte er tiefer zu ergründen mit allen Mitteln der Chemie, der physikalischen Chemie, der Physiologie und der Pharmakologie. Er war wirklich — vielleicht noch mehr als GREMELS oder gar MANSFELD — ein Pharmakologe nach SCHMIEDEBERGS Definition, der „die Lebensvorgänge zu erforschen sucht, indem er mit chemischen Agentien physiologische Reaktionen ausführt."

In lebendigster Erinnerung sind uns noch die inhaltlich so wichtigen Vorträge, die uns RIESSER auf den letzten beiden Tagungen hielt, über den Antagonismus von Adrenalin und Insulin bei der Glykogenbildung im isolierten Muskel und über den feineren Wirkungsmechanismus der Muskelpharmaka nebst ihrer therapeutischen Bedeutung. Dabei sprachen seine letzten Worte von dem „Ehrgeiz, das Interesse für dieses bedeutsame und vielseitige Gebiet auch bei denen zu wecken, die ihm sonst ferner stehen." Wir dürfen heute sagen, daß RIESSER und seine Schüler zur Ausgestaltung unseres heutigen Bildes von der Muskelfunktion Wesentliches beigetragen haben trotz einer erdballumfassenden Konkurrenz zahlreicher Forscher ersten Ranges.

Jedoch mit seiner Intelligenz, seinem Eifer, seinen Erfolgen, ist auch für uns OTTO RIESSER nicht erschöpft. Sein Verlust greift uns noch tiefer in die Seele, weil er ein seltener *Mensch* war, ein *Vorbild* als Mensch. Er verlor sein Gehör, er verlor seine erste Frau, er verlor geliebte Kinder, er verlor seine Stellung, er verlor seine Heimat, doch niemals verlor er auch nur ein kleines Stück seines Selbst. Seine Menschenfreundlichkeit blieb unerschütterlich; wo er sich zeigte, gewann er nur Freunde und zu den Studenten stand er in reiner Kameradschaftlichkeit; noch als reifer Professor setzte er sich zu ihnen ins sportliche Boot und ruderte mit ihrer jugendlichen Kraft um die Wette. Als er 1935 mit TAUBMANN sein Lehrbuch „Arzneikunde und Arzneiverordnung" herausgegeben hatte, kritisierte ich es, weil mir etwas zu viel vom Muskel darin zu stehen schien und zu wenig von einigen anderen Dingen. RIESSER reagierte damit, daß er sich *bedankte*, weil ich ihn auf Fehler aufmerksam gemacht hätte. Man kann wohl nicht stolzer und zugleich weniger eitel sein. Sein hoher Sinn machte selbst auf die Fanatiker Eindruck: die Behörden des Dritten Reiches behandelten ihn sichtlich rücksichtsvoller als manchen seiner Schicksalsgenossen. Aus dem Exil schrieb er Briefe, in denen nie eine Klage stand über das, was ihm angetan ward, nur immer die Sorge um den bedrohlichen Weg des deutschen Vaterlandes und der Kummer über die eigene Nutzlosigkeit in dem verzweifelten Ringen des Krieges. Und daß er frei bleiben und arbeiten durfte, bereitete seiner edlen Natur kaum weniger Schmerz als Befriedigung; wie beklagte

er seine Hilflosigkeit auch gegenüber seinen schwerer betroffenen Kollegen. In seinem letzten Leiden war er es selbst, der auf Operation drängte, denn ihn verlangte nach ungehemmter Arbeitskraft; als er selbst den Mißerfolg erkannte, sah er dem Tod mit sokratischer Gelassenheit ins Auge. Auch er wäre wohl des Wortes fähig gewesen:

„Vergeßt nicht, dem Asklepios einen Hahn zu opfern."

Mir scheint, Riesser entsprach wirklich dem Ideal, wie ich es mir einmal in jungen Jahren aufgezeichnet habe:

„Wer sich bewußt des eignen Wertes wird,
Ist nie durch Glück und nie durch Leid beirrt.
Er wandelt hin, wo er sich sieht gewiesen,
Und müht sich ab, ein redlich Werk zu tun
In Furcht allein vor der Gefahr: zu ruhn.
So nimmt er ungeschmäht und ungepriesen
Als ein Geschenk in stetem Gleichmut hin,
Was ihm an siechem Weh, trübsinn'ger Plage,
Was ihm an Glanz und Wonnen und Gewinn
Des Schicksals Ungefähr entgegentrage.
Gerüstet für den Tod wie für das Leben,
Auf Alles Unerhörte stets gefaßt,
Bewältigt bis zuletzt er ohne Beben
Mit Adel die ihm zugewogne Last."

Ich bitte Sie, sich zu Ehren der Verstorbenen zu erheben. Sie hob die Welle, verschlang die Welle und sie versanken.

Einen Mann wie Otto Riesser, der der unsre war, der an unserer Spitze stand, dürfen wir nicht vergessen. Seit er nicht mehr unter uns weilt, sollten wir um so mehr dessen bewußt werden, was er uns als wahres Vermächtnis hinterließ, seine Eröffnungsrede vom Jahre 1948. Wie sehr sie ihm selbst Herzenssache war, beweist der vorzeitige Druck dieser Rede als Manuskript in Oberursel und ihre Versendung.

Es tut mir leid, daß ich ihre klassische Diktion nicht Wort für Wort wiederholen kann; doch wünschte ich sie mir zum Brevier jedes jungen Pharmakologen. In tiefdurchdachten Ausführungen prüft Riesser die Frage „nach den moralischen Voraussetzungen und den moralischen Grenzen wissenschaftlichen Strebens"; er betont die Verpflichtung zur Wahrheit, zur strengen Selbstkritik, die *Liebe* zur Wissenschaft, das *reine Herz* in ihrem Dienst als *sittliche* Forderungen. „Wer der wahren Wissenschaft sich widmen will, muß zu Opfern bereit sein." Wie hat er selbst dies Alles uns vorgelebt!

Und in diesem Rahmen sei auch dem Schriftleiter in mir ein Zitat vergönnt: „Reinheit des sprachlichen Ausdrucks und Schönheit seiner Form sind weit mehr als Äußerlichkeiten; sie offenbaren das Bekenntnis zur Würde des wissenschaftlichen Strebens und sind ein wichtiges Merkmal der Gewissenhaftigkeit, mit der ein Forscher seine Aufgaben durchdenkt."

Ich liebe das Wort „Gewissenhaftigkeit"; in ihm steckt der unabdingbare Zusammenhang von Wissen und Verantwortung, den Heinrich Zangger in Zürich zeitlebens mit der hinreißenden Wucht seiner kraftvollen Persönlichkeit verteidigt hat, den man aber auch schon in das uralte Wort vom Baume der *Erkenntnis* hineindeuten könnte: „Ihr werdet wissen, was gut und böse ist."

Meine Damen und Herren! Die Gedanken und die schriftlichen Äußerungen unserer Zeit sind erfüllt davon, daß wieder einmal erlebt wurde, wie wenig die Evolution im Gebiete des Rationalen an der Streuung im Gebiete des Irrationalen, vielleicht besser des Subrationalen geändert hat. Selbst Riesser bekennt: „Wir

müssen uns bescheiden mit der alten Wahrheit, daß Gutes und Schlechtes im Menschen beieinander wohnen und manchem die Kraft fehlt, sich gegen die eigene Schlechtigkeit zu wehren." Es gibt eben nach wie vor neben den reinen Herzen genug unsaubere in mannigfacher Abstufung. Philosophische Geister, wie Albert Schweitzer, Ortega y Gasset, Lecomte du Noüy, in unserer Nähe Nicolai Hartmann und manche andere ringen erneut um Formulierung und Einordnung der uralten seelischen Werte, die Vielen geradezu der Inbegriff *des* Lebenswerten sind und die doch so stark und vielseitig bedroht scheinen. Wir Pharmakologen stehen in der Reihe der Wissenschaften an einer Stelle, wo sich die beiden Seiten unseres geistigen Lebens auf Innigste verflechten, und zwar unmittelbar aus dem *Gegenstand* unserer fachlichen Arbeit heraus: Zwar suchen wir nüchtern mit den Waffen der Beobachtung, der Messung und der Logik Tatbestände aufzunehmen, und ihren Zusammenhang zu ermitteln, um unsere Neugier zu befriedigen, das quälende Nagen eines ungelösten Problems zu beseitigen; aber wir können ja nicht darüber hinwegsehen, daß ein neutrales Pharmakon auch Therapeutikon oder Toxikon werden, d. h. weit außerhalb unseres Laboratoriums in das Schicksal von Nebenmenschen eingreifen kann. Ich brauche meinen Fachgenossen nicht zu sagen, daß heutzutage die Zweckforschung weitaus das Übergewicht bei uns hat und viele Vertreter benachbarter Wissenschaften oder gar die große Welt wissenschaftlicher Laien unsere wesentliche Aufgabe in der Produktion neuer Therapeutika erblicken.

Was aber umfaßt der Begriff des „neuen Therapeutikons" an Schwingungen im Seelenleben, die mit der Erkundung faktischer Befunde, der sachlichen Feststellung der Wahrheit kaum noch etwas zu tun haben! Vor 20 Jahren hielt ich in Heidelberg meine Antrittsvorlesung über „Arznei als Wert", in der ich versucht habe, diese psychologischen Phänomene ein wenig zu charakterisieren. Welcher Bewertungsfaktor steckt in der Hoffnung des leidenden und leistungsschwachen Menschen oder seiner Umgebung, aus der all die suggestiven Wirkungen erwachsen, die in Wahrheit den Großteil aller Arzneitherapie ausmachen — zum Glück für die Ärzte, zum Glück auch für die Geschäftsleute. Eine ganz besondere Bewertung der Arznei ist ihr Preis in barem Gelde und das ist ja nun ein Begriff, durch den die Reinheit des Herzens zuweilen in Gefahr kommt. Daher das Nadelöhr als Eingang zum Paradies für die Reichen!

Das sittliche Empfinden eines reinen Herzens, im christlichen wie einfach im ärztlichen Sinne, kann kaum unberührt davon bleiben, wenn gerade die Leiden des Menschen ein besonders gesuchtes Objekt kaufmännischen Unternehmungsgeistes bilden. Auch die Krankenversicherung kann uns nur wenig darüber hinwegtrösten, denn was könnte sie sonst bieten, wenn ihre Mittel nicht für allzu viel kostspielige Suggestivtherapie vergeudet würden? Mir scheint das Drängen der Versicherungskassen auf Einschränkung des Arzneiverbrauchs so unbillig nicht, wie es oft auch von Ärzten empfunden wird. Grenzt es nicht schon an Unlauterkeit, daß wirtschaftliche Fachzeitschriften seit Jahrzehnten ganz selbstverständlich die Notwendigkeit erörtern, daß man Arzneimittel durch Propaganda an Ärzte und Kranke *heranbringen* müsse — statt daß aus dem *Bedürfnis* der Umsatz erwüchse? Im vergangenen Jahre fand ich in einer einzigen Nummer einer ärztlichen Wochenschrift 91 verschiedene neue Arzneispezialitäten angezeigt. Wir erleben die Tendenz, daß selbst angesehene Firmen über neue Produkte vorzeitig in der Öffentlichkeit berichten und daß überdies jede Äußerung auf arzneilichem Gebiet von eifrigen Journalisten sofort in der Tagespresse sensationell aufgemacht wird.

Es ist ein sittliches, vom ärztlichen Ethos bedingtes Aufbegehren, das uns gegen solche Erscheinungen einnimmt. Denn unser Wissen verpflichtet uns, auch den seelischen Störungen zu begegnen, die übermäßige Hoffnungen oder Enttäuschungen bei Kranken bedeuten können. Man hört und liest nicht selten das Pathos

„suprema lex salus aegroti" dicht neben Äußerungen, in denen der Kranke im wesentlichen wirtschaftlich als „Arzneiverbraucher" angesehen wird. Weht es uns nicht zuweilen an, wie der erste Schauer jener gefürchteten Gesinnung „gegen die Menschlichkeit?" Denn wer ein wahrer Arzt ist, hat seine eigene Art von „Ehrfurcht vor dem Leben".

Ein zweites viel zitiertes Wort „nil nocere" lenkt unser Gewissen auf das toxikologische Wissen, das ja auch im Arzneiwesen schon seine Rolle spielt; immer wieder sehen wir, wie bei der Propaganda für neue Mittel Stoffwechsel- oder Suchtgefahren bagatellisiert werden. In der gewerblichen Toxikologie gibt es so gut Beschönigungen wie Anschwärzungen — je nach den geschäftlichen Interessen. Vielfach spielt Unwissenheit eine Rolle, was bei der heutigen Spezialisierung alles Wissens nicht verwunderlich ist. Um so mehr aber tragen wir als Fachleute durch unser besonderes Wissen eine besondere Verantwortung. Wer es nicht besser weiß, darf gewiß sogar D 30 oder giftige Wurmmittel gebrauchen, wer es aber *weiß*, der hat die sittliche Pflicht zum Widerspruch.

Wie tief der einzelne dieser sittlichen Pflicht gehorsam ist, stuft sich ab nach dem Gesetz biologischer Streuung. Die deutsche pharmakologische Gesellschaft aber als Kollektiv sollte dauernd bestrebt sein, Vertreterin der homines bonae voluntatis zu bleiben. Als Repräsentantin von Ärzten trägt sie auf dem Gebiet ihres Faches mit an der Verantwortung, die uns abgrenzt von Pharmazeuten, Chemikern, Unternehmern, wie auch von Tierärzten und selbst Physiologen. An dieser Scheidung der beruflichen Verantwortung ändert es nichts, daß Pharmakologen *außerdem* Pharmazeuten oder Physiologen sein können, wie gerade mehrere von denen, die wir heute beklagen.

Schon bisher hat es unsere Gesellschaft vielfach getan und sie will auch weiterhin allen Bestrebungen zur Stütze dienen, die der wissenschaftlichen Erkenntnis und der Wahrhaftigkeit im praktischen Leben zur stärksten Wirkung verhelfen wollen.

Sie beklagt es daher, daß die „Sammlung von Vergiftungsfällen" noch nicht wieder erscheinen konnte, in der sie ein wesentliches Hilfsmittel zur Beurteilung von Vergiftungen und ihrer Abwehr gesehen hat, um so mehr als neuartige Formen von Vergiftungen fortlaufend beobachtet werden. Die Gesellschaft nimmt ferner aufs Lebhafteste Interesse an der Entwicklung des pharmakologischen Forschungsinstitutes in Göttingen, zu dessen Aufgaben die Kontrolle der biologisch auszuwertenden Arzneiwaren gehört. Und die Gesellschaft begrüßt es, wenn ihre Mitglieder tätigen Anteil nehmen an allgemeinen Fragen des Gesundheitswesens, wie etwa der Neufassung des Arzneibuches oder der Gestaltung eines Arzneimittelgesetzes.

All unserer ethischen Bindungen wollen wir im Geiste Riessers eingedenk sein, wenn wir nun die reine Luft der sachlichen Gedankenarbeit atmen wollen. Wir sind erfreut, daß aus der Schweiz und aus England 2 hervorragende Gelehrte zu uns gekommen sind, um auch in diesen Räumen ein wenig von dem neuen Europa spüren zu lassen, das unsere Jugend sich erträumt. Freilich sind die Herren Feldberg und Wilbrandt eigentlich nur einmal *zurück*gekehrt zu uns; wir sind ihnen viel Dank schuldig für die Mühe, die sie sich gegeben haben, um uns Referate zu erstatten. Wir freuen uns aber auch über alle anderen Gäste, die an unserer Tagung teilnehmen, aus welchem Lande oder aus welchem Fachgebiet sie auch kommen mögen. Wir grüßen sie alle herzlich und glauben uns mit allen verbunden fühlen zu dürfen unter der Devise, die Otto Riesser uns gegeben hat: „Nichts erzieht zu größerer Ehrfurcht vor der Natur, in der uns das Göttliche erscheint, als der Dienst an der Wissenschaft, wenn wir uns ihm reinen Herzens widmen."

Dies laßt uns tun auf dieser 17. Tagung der deutschen pharmakologischen Gesellschaft, die ich hiermit eröffne.

B. Referate.

W. Wilbrandt (Bern): Permeabilitätsprobleme.

Mit 8 Textabbildungen.

Das Wasser des Körpers verteilt sich auf drei Räume, den Plasmaraum im Blutzirkulationssystem, das Interstitium zwischen den Zellen und das Protoplasmawasser im Inneren der Zellen. Diese Räume sind gegeneinander durch zwei verschiedene Membranen abgegrenzt, durch die Kapillarwand zwischen Plasmaraum und Interstitium und die Zellmembranen zwischen Interstitium und protoplasmatischem Raum.

Den beiden Membranen ist gemeinsam die Aufgabe, den Stoffaustausch zwischen Blut und Zellen zu gewährleisten. Darüber hinaus hat die Kapillarwand die von Starling[49] genial erkannte physiologisch wichtige Aufgabe der Regulation der Wasserverteilung im Körper auf Grund des kolloid-osmotischen Gleichgewichts. Die Zellmembranen dagegen sind zunächst dafür verantwortlich, daß die chemische Einheit der Zelle gewährleistet wird, die ohne hohes Diffusionshindernis bei der enormen Geschwindigkeit der Diffusion auf kleine Strecken sich in Bruchteilen einer Sekunde auflösen würde. Außerdem zeigt sich in steigendem Maß, daß die Zellmembranen als Zellorgane zu betrachten sind, die Träger wichtiger physiologischer Funktionen sind, in erster Linie im Dienste des aktiven Transports bei drüsenartigen Organen und im Dienste der Erregung bei erregbaren Zellen.

Die verschiedenartige physiologische Bedeutung der beiden Membranen hat zur Folge, daß die Kapillarwände in bezug auf ihre Durchlässigkeit ganz anders zu bewerten sind als die Zellmembranen. Das zeigt sich zunächst sehr eindrücklich, wenn man den Durchlässigkeitsgrad der beiden Membranen vergleicht. Als geeignete Kriterien können dienen die Wasserdurchlässigkeit, die in physikalischen Einheiten meßbar ist und die Porosität, als deren Maß das Grenzmolekularvolumen genommen werden kann, oberhalb dessen eine Penetration nicht mehr möglich ist. Beide Werte liegen bei der Kapillarmembran um Größenordnungen höher als bei den Zellmembranen.

Die Wasserpermeabilität (in μ^3/min, at. μ^2) der Kapillarwand beträgt nach Landis[36] 370, diejenige verschiedener Säugetierzellen (Erythrozyten, Leukozyten, Fibroblasten) variierte in den Messungen von Shapiro und Parpart[48], Jacobs[32] und Brues und Masters[6] zwischen 0,29 und 3,0. Das Grenz-Molekulargewicht für die Penetration fanden Bayliss, Kerridge und Russell[2] für die Kapillarwand des Nierenglome-

rulus bei 68000, für verschiedene Säugetierzellen liegt es nach einer Zusammenstellung von Schmengler und Höber[45] etwa zwischen 100 und 300.

Die höhere Durchlässigkeit der Kapillarwand im Vergleich zu den Zellmembranen ist offenbar dadurch begründet, daß der Durchtrittsmechanismus in zweifacher Hinsicht ein prinzipiell anderer ist. Die Passage der Kapillarwand erfolgt nach Meinung namhafter Autoren in erster Linie durch Filtration (Krogh[35], Danielli und Stock[16], Chambers und Zweifach[8]), die der Zellmembran durch Diffusion. Der Durchtrittsweg ist bei der Kapillarwand in der Hauptsache interzellulär, so daß die Bedeutung der Eigenschaften der Zellmembrane hier zurücktritt, diejenige des interzellulären Kitts in den Vordergrund rückt.

Die folgenden Ausführungen beschränken sich im wesentlichen auf die Permeabilität der Zellmembranen. Ihr Zweck ist weniger, eine auch nur skizzenhafte Übersicht über das heute vorliegende gesamte Beobachtungsmaterial zu geben, als vielmehr zu zeigen, daß an verschiedenen Stellen die „klassischen" Permeabilitätsprinzipien sich zunehmend unzulänglich erweisen und daß neue Deutungen gesucht werden müssen, insbesondere aber, daß die Membranen gewisser Zellen nicht nur passive Durchtrittspforten sind, sondern aktiven Anteil haben an Leistungen der Zellen. Im Vordergrund stehen hier die Probleme des aktiven Transports und der Erregungsvorgänge.

Methodisches.

Das Ziel einer Permeabilitätsmessung sollte, wenn immer möglich, in der Bestimmung einer Permeabilitätskonstante liegen, die heute in vielen Fällen mit ausreichender Genauigkeit bestimmt werden kann. Es ist eine Konstante, die der Diffusionskonstante entspricht, aber die Dimension Länge/Zeit hat, also im allgemeinen in cm/Std ausgedrückt wird, während die Dimension der Diffusionskonstante Länge^2/Zeit ist[40]. Der Unterschied rührt von der Membrandicke her, die nicht bekannt ist und in die Permeabilitätskonstante mit hinein genommen wurde.

Die Kinetik der Penetration ist für eine größere Anzahl von Versuchsanordnungen heute durchgearbeitet und erlaubt in vielen Fällen aus Bestimmungen verschiedener Art die Errechnung einer Permeabilitätskonstanten. (Für eine Zusammenstellung siehe[63].) Die Meßmöglichkeiten, die zur Verfügung stehen, sind natürlich erstens chemische Bestimmungsmethoden, deren Anwendung sich auf große Zellen beschränkt, heute ergänzt durch die bequeme Messung mit Hilfe von Radioisotopen, die gestattet, auch im Diffusionsgleichgewicht zu arbeiten. Weiter ist zu erwähnen die elektrische Methode, die bisher wirklich fruchtbare Ergebnisse in erster Linie an großen punktierbaren Zellen ergeben hat (Diskussion siehe bei Cole[11]).

Schließlich ist eine große Zahl von Untersuchungen mit osmotischen Methoden durchgeführt worden, bei denen das Volumen der Zellen als Maß benutzt wird. Das Volumen ändert sich bei Wasserverschiebungen infolge von Differenzen im osmotischen Druck außen und innen, also einmal in nichtisotonischen Lösungen, ferner bei der Penetration von gelösten Substanzen sekundär infolge der Verschiebung der osmotischen Druckverhältnisse.

Auch hier stehen eine Reihe von verschiedenen Methoden zur Verfügung, so die mikroskopische Ausmessung der Zelldimensionen, die Wägung von Organen, die Messung des Gesamtvolumens freier Einzelzellen in Suspension mit Hilfe des Zentrifugierens und schließlich beim Erythrozyten die optische Messung mit Hilfe der Lichtdurchlässigkeit, die darauf basiert, daß die Erythrozyten bei einem bestimmten Volumen für Hämoglobin durchlässig werden und hämolysieren.

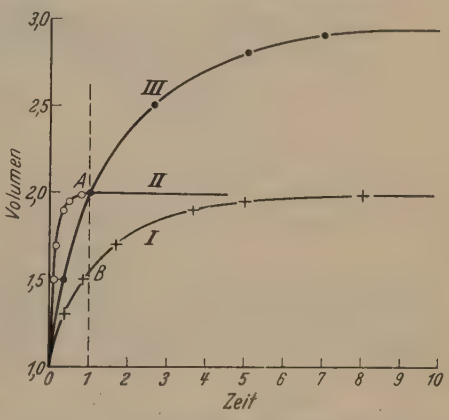


Abb. 1. Geschwindigkeit und Gleichgewicht. Die beiden Schwellungskurven I und II unterscheiden sich nur in der Geschwindigkeit, die Kurven I und III nur im Gleichgewicht. Wählt man als Kriterium das Volumen nach der Zeit 1, so kann eine Verschiebung vom Volumen B zum Volumen A sowohl durch Erhöhung der Geschwindigkeit als durch Verschiebung des Gleichgewichts zustande kommen.

Wir haben uns in den letzten Jahren mit der letztgenannten Methode vielfach beschäftigt, nicht nur aus dem Grunde, weil Erythrozyten ein leicht erhältliches und bequem handzuhabendes Material darstellen, sondern auch in der Überzeugung, die sich mehr und mehr rechtfertigt, daß die Erythrozytenmembran nicht nur als Modell für eine Zellmembran im Sinne einer Durchtrittsmembran benutzt werden kann, sondern daß sie auch von den wichtigeren physiologischen Eigenschaften, die im Dienste der Zellfunktion stehen, noch eine Anzahl in genügendem Ausmaß besitzt, um nützliche Untersuchungen durchzuführen. Der Erythrozyt ist zwar ein Spezialist, besitzt aber doch soviel Erbmaterial, daß er für eine Reihe von allgemein zellphysiologischen Fragestellungen interessant ist.

Methodisch liegen vor allem zwei Meßmöglichkeiten[55, 60, 64] vor, die direkte Verfolgung der Hämolyse, die wir mit photoelektrischer Anordnung durchführen, und die indirekte Bestimmung einer Verfolgung des Eindringens einer Substanz durch fortlaufende Aufnahme von osmotischen Resistenzkurven.

Auf einen Punkt, der in zahlreichen Untersuchungen zu wenig berücksichtigt worden ist, muß immer erneut hingewiesen werden: auf

den Unterschied zwischen Geschwindigkeitsänderungen und Gleichgewichtsänderungen[5, 57]. Er möge an einem Beispiel erläutert werden. Von den drei Schwellungskurven in Abb. 1, die nach kinetischen Formeln berechnet sind, unterscheiden sich I und II nur in der Geschwindigkeit und I und III nur im Gleichgewicht. Nimmt man einen bestimmten Meßpunkt als Kriterium, z. B. das Volumen nach einer bestimmten Zeit, so kann eine bestimmte Verschiebung dieses Punktes, z. B. von

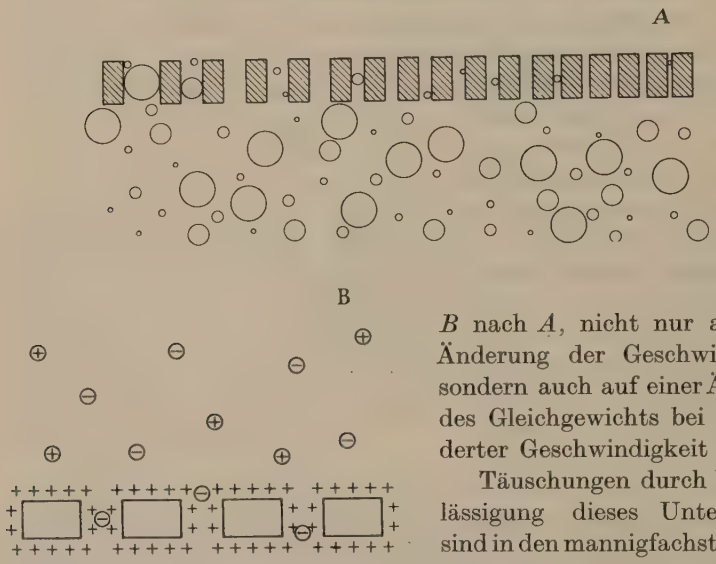


Abb. 2. A. Schema einer Porenmembran mit einer Population von Poren verschiedener Größe, die bei Wahrscheinlichkeitsverteilung der Porengrößen zu S-förmiger Abhängigkeit zwischen Durchlässigkeit und Molekulargröße führen muß. B. Schema einer elektrisch geladenen Porenmembran, die je nach Ladung nur Partikel des einen oder anderen Ladungsvorzeichens penetrieren läßt.

B nach *A*, nicht nur auf einer Änderung der Geschwindigkeit, sondern auch auf einer Änderung des Gleichgewichts bei unveränderter Geschwindigkeit beruhen.

Täuschungen durch Vernachlässigung dieses Unterschiedes sind in den mannigfachsten Variationen möglich und sind erfahrenen Untersuchern auf diesem Gebiet unterlaufen. Eine Änderung des Gleichgewichts kann bedingt sein durch eine Änderung des osmotischen Wertes der Zellen, kann aber auch bedingt sein durch Verschiedenheit der Außenvolumina bei Auswärtsdiffusion, in anderen Fällen durch veränderte Speicherungsaffinität, um nur einige zu nennen. Beim Erythrozyten ist vor allem bei der direkten Methode die Unterscheidung zwischen Geschwindigkeits- und Gleichgewichtsänderung sehr wichtig. Solche Bestimmungen sollten niemals ohne Kontrolle der osmotischen Resistenz durchgeführt werden.

Die „klassischen" Permeabilitätsprinzipien.

Die wichtigsten Prinzipien, die für den Stoffdurchtritt durch die Zellmembran verantwortlich gemacht worden sind und die hier als

„klassische" bezeichnet werden mögen, sind das Prinzip der Porosität, der Löslichkeit und der elektrischen Ladung.

Die Vorstellung der Porosität der Membran, die zu einer Siebwirkung führt, ist durch das Schema der Abb. 2 A veranschaulicht: in einer

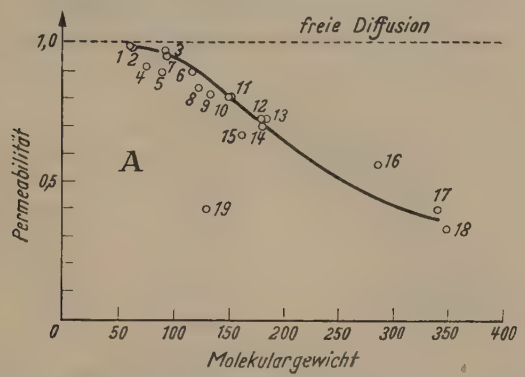


Abb. 3. A. Permeabilität von Beggiatoa mirabilis (Schwefelbakterium) für 19 Substanzen, gegen das Molekulargewicht aufgetragen nach S. SCHÖNFELDER (10 b). Verwendete Substanzen: 1 Harnstoff, 2 Glykol, 3 Glycerin, 4 Glykokoll, 5 Alanin, 6 Succinimid, 7 Anilin, 8 Erythrit, 9 Asparagin, 10 Arabinose, 11 Arabit, 12 Glukose, 13 Mannit, 14 Fruktose Mannose, 16 Coniin, 16 Salicin, 17 Morphin, 18 Thebain, 19 Leucin.

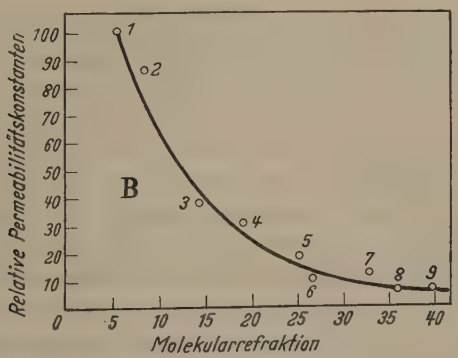


Abb. 3. B. Permeabilität einer Porenmembran (Kollodiummembran), für 9 Substanzen gegen die Molekular-Refraktion als Maß der Molekulargröße aufgetragen. Nach COLLANDER (14). Verwendete Substanzen: 1 Ammoniak, 2 Ameisensäure, 3 Glykolsäure, 4 Milchsäure, 5 Äpfelsäure, 6 Weinsäure, 7 Methyläthylmalonsäure, 8 Zitronensäure, 9 Chinasäure.

Population von Poren verschiedener Größe stehen den penetrierenden Molekülen desto mehr Poren zur Verfügung, je kleiner sie im Verhältnis zur Siebweite sind; Beispiele für ein solches Verhalten bieten die Schwefelalge Beggiatoa[46], die von RUHLAND als das klassische Objekt der Porentheorie untersucht worden ist und entsprechende Modellversuche an

Kollodiummembranen (COLLANDER[12]). Beide sind in Abb. 3 zusammengefaßt.

Die OVERTONsche Lipoidlöslichkeitstheorie ist vor allem an botanischen Objekten geprüft und begründet worden. Die besten biologischen Untersuchungsserien sind wohl diejenigen von COLLANDER und BÄRLUND[13] an Chara-Zellen, die mit chemischer Methodik an einer sehr großen Zahl von Substanzen durchgeführt worden sind und bei denen

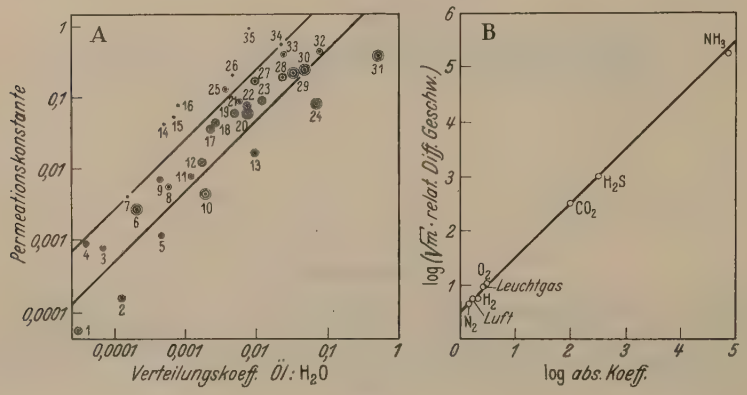


Abb. 4.

sich eine recht gute Relation zwischen Lipoidlöslichkeit und Penetrationsfähigkeit gezeigt hat. Den elegantesten physikalischen Modellversuch lieferten die Durchlässigkeit der Seifenschaumlamellen für Gase, die von EXNER untersucht worden ist[19, 62]. Eine zusammenfassende Darstellung gibt Abb. 4.

Die weitere Entwicklung hat zu kombinierten Annahmen geführt, etwa der Lipoidfiltertheorie von COLLANDER, nach der beide Prinzipien wirksam sind und das Prinzip der Löslichkeit sich vor allem bei hochlipoidlöslichen und das der Siebwirkung vor allem bei sehr kleinen Molekülen besonders stark auswirkt. Es gibt danach ein Grenzvolumen der Molekulargröße, oberhalb dessen nur noch hochlipoidlösliche Substanzen eindringen können und eine Grenze der Lipoidlöslichkeit, unterhalb deren nur noch sehr kleine Moleküle penetrieren.

Die Annahme elektrisch geladener Membranen ist durch eine Anzahl von guten Modellen gestützt[38] und mehrfach quantitativ bearbeitet worden[37, 51]. Das am meisten bearbeitete Modell, die getrocknete Kollodiummembran, ist durch Farbstoffimprägnation umladbar und zeigt je nach Ladungsintensität und Vorzeichen mehr oder weniger selektive Permeabilität für Kationen oder für Anionen. Entsprechende Analoga auf der biologischen Seite sind die Anionendurchlässigkeit der roten

Blutkörperchen und die bis vor kurzem supponierte reine Kationendurchlässigkeit von Zellen wie Muskeln und Nerven.

Spezifitäten.

Daß die klassischen Prinzipien nicht ausreichen, zeigte sich zunächst bei extensiven vergleichenden Permeabilitätsmessungen. Vor allem JACOBS[31] hat darüber sehr interessantes Beobachtungsmaterial ge-

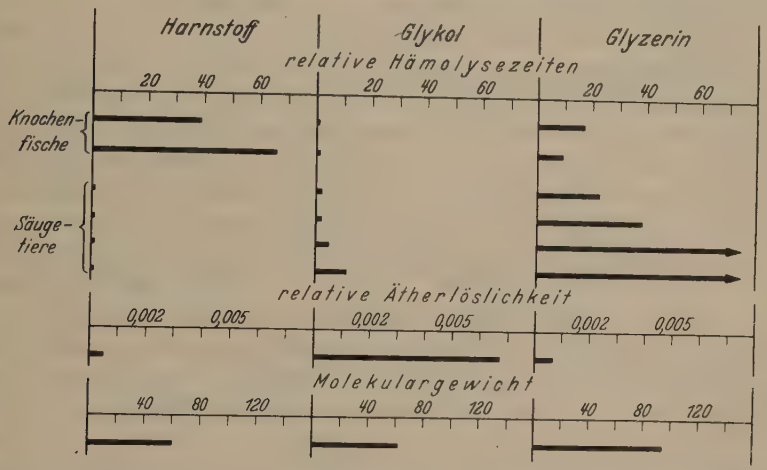


Abb. 5. Artspezifität der Erythrozyten-Permeabilitat. Hämolysezeiten von Blut verschiedener Tierarten in isotonischen Lösungen von Harnstoff, Glykol und Glycerin, nach JACOBS (15). Als Maß der Lipoidlöslichkeit und der Molekulargröße die relative Ätherlöslichkeit und das Molekulargewicht der genannten drei Substanzen.

sammelt. Ein Beispiel gibt Abb. 5, in der für Blut verschiedener Tierarten die Hämolysezeiten in isotonischen Lösungen von drei penetrierenden Anelektrolyten als Maß ihrer Penetrationsgeschwindigkeit zusammengestellt sind. Zum Vergleich sind auch die physikalischen Eigenschaften der Moleküle eingezeichnet. Greift man etwa das Beispiel des Glykols und Harnstoffs heraus, die praktisch gleiche Molekülgrößen haben, so versagen die klassischen Prinzipien zur Erklärung der Tatsache, daß das besser lipoidlösliche Glykol in Säugererythrozyten ungleich langsamer eindringt als der Harnstoff.

Weitere auffallende Artunterschiede sind in der Zusammenstellung leicht zu erkennen. Die Spezifität geht so weit, daß es wahrscheinlich bei genügender Anzahl von Testsubstanzen durchaus möglich wäre, das Blut einer Tierart aus den Permeabilitätseigenschaften der Erythrozyten zu bestimmen.

Man nähert sich also der Spezifität der chemischen Reaktion und hat dementsprechend auch die Annahme gemacht[41], daß die Penetration mit Knüpfung und Lösung von Haupt- oder Nebenvalenzbildungen

verbunden ist. Danielli[17] hat insbesondere durch energetische Berechnungen wahrscheinlich gemacht, daß es sich in gewissen Fällen um Wasserstoffbrücken handelt.

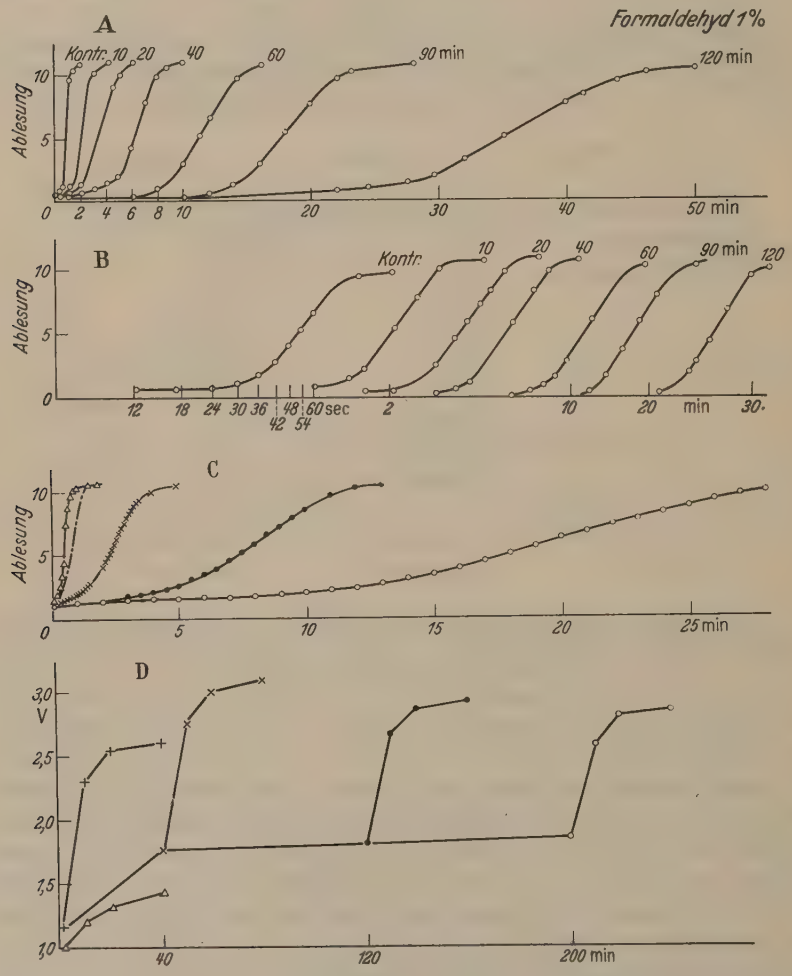


Abb. 6. A. Hämolysekurven in hypotonischer Kochsalzlösung nach steigenden Einwirkungszeiten von 1% Formaldehyd auf eine Blutsuspension. — B. Die gleichen Kurven mit logarithmischem Zeitmaßstab gezeichnet, wobei die parallele Kurvenform auf eine homogene Kurvenschar mit der Geschwindigkeit als Parameter deutet. — C. Hämolysekurven in hypotonischer Kochsalzlösung nach 2 min, 40 min, 120 min und 200 min Einwirkung von Formaldehyd auf eine Blutsuspension. — D. Eintrittsgeschwindigkeit von Glyzerin in die gleichen Suspensionen wie in den Kurven C, mit dem indirekten Verfahren bestimmt. Im Gegensatz zu der starken Verzögerung des Wassereintritts in den Kurven C ändert sich in den Kurven D die Eintrittsgeschwindigkeit des Glyzerins durch die Einwirkung des Formaldehyds nicht.

Es ist auch wahrscheinlich, daß für den Durchtritt verschiedener Moleküle verschiedene Eintrittsstellen bestehen. Danielli und Davson[17]

haben die Annahme spezifischer „aktiver Bezirke" für die Penetration verschiedener Moleküle eingeführt. Als Stütze für solche Anschauungen sei eine neuere Beobachtung gezeigt, die die Wirkung des Formaldehyds betrifft. Sie ergab sich bei einer Untersuchung der Adstringentie auf breiterer Basis.

Die Wirkung des Formaldehyds besteht in einer ausgesprochenen Verzögerung der Hämolysekurven (Abb. 6 A), die mit steigender Einwirkungszeit des Formaldehyds immer stärker wird und bis zur vollständigen Undurchlässigkeit der Membran führen kann. Nach mäßigen Einwirkungszeiten ist sie reversibel. Es läßt sich durch eine Reihe von Kriterien zeigen, daß es sich um eine Abdichtung der Membran gegenüber dem Eintritt des Wassers handelt und nicht, wie PONDER annahm, um Gelierung des Zellinhalts unter der Wirkung des Formaldehyds. So zeigen, um nur einen Punkt zu nennen, die Kurven bei Verwendung eines logarithmischen Zeitmaßstabs parallelen Verlauf, wie es bei einer homologen Kurvenschar mit der Geschwindigkeit als Parameter zu erwarten ist. (Abb. 6 B)

Auffallend ist nun, daß bei einer Formaldehydwirkung, die eine hochgradige Verzögerung der Hämolysekurven ergibt, (Abb. 6 C) der indirekt bestimmte Eintritt von Glyzerin praktisch gar nicht verzögert wird (Abb. 6 D). Offenbar benützen die beiden Moleküle verschiedene Durchtrittspforten durch die Membran.

Adstringentien.

Bevor auf andere Beobachtungen eingegangen wird, die die komplexe Natur der Permeationsvorgänge demonstrieren und zur „Organfunktion" der Zellmembran überleiten, seien aus der genannten Untersuchungsreihe über Adstringentien einige weitere Beobachtungen erwähnt, die teilweise auch auf differenzierte Mechanismen und Rezeptoren deuten.

a) Tannin.

Tannin hat die Eigenschaft, daß es viele Hämolysen vollständig zu verhindern scheint. Es erweckt so den Eindruck einer Abdichtung der Membran, die höchste Grade erreicht. Quantitative Untersuchungen von HEIMANN[70] über die Tanninaufnahme durch die Erythrozyten, die zunächst unverständliche Resultate ergaben, haben dann aber eine mikroskopische Kontrolle nötig gemacht, bei der sich zeigte, daß die Hämolysehemmung vorgetäuscht ist. Tatsächlich schwellen und hämolysieren die Zellen mit wenig veränderter Geschwindigkeit, nur wird im Moment der Hämolyse, d. h. des Hämoglobinaustritts, Hämoglobin in Form eines Klümpchens an der Oberfläche der Zelle niedergeschlagen, so daß eine Aufhellung der Suspension unterbleibt. Damit stimmt die

schon von anderen Autoren, so von Bohlmann[4] gemachte Beobachtung überein, daß die hämolysehemmende Konzentration mit der hämoglobinfällenden Konzentration des Tannins übereinstimmt.

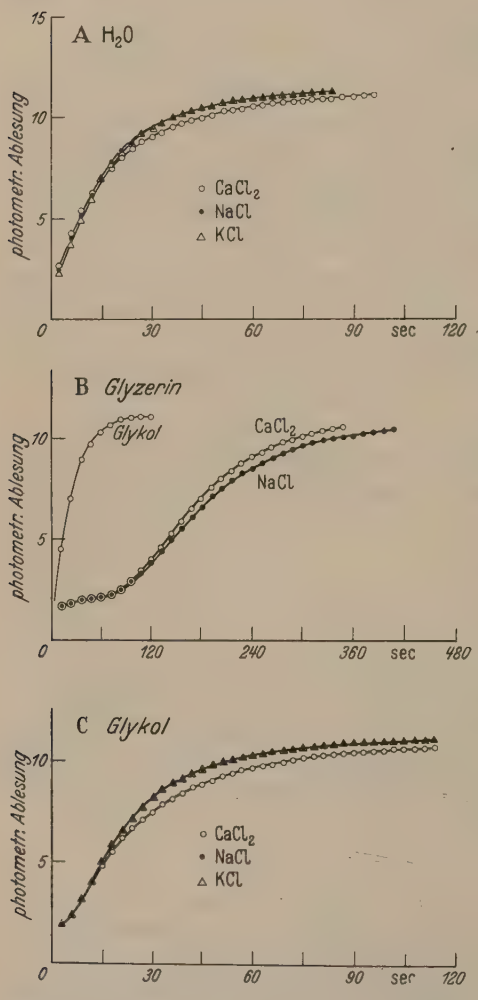


Abb. 7. A. Hämolysekurven in hypotonischen Lösungen von NaCl, KCl und $CaCl_2$. Die Eintrittsgeschwindigkeit des Wassers wird durch die Kalzium-Ionen praktisch nicht beeinflußt. — B. Hämolysekurven in isotonischen Lösungen von Glyzerin mit Zusatz von NaCl und $CaCl_2$. Die Eintrittsgeschwindigkeit des Glyzerins wird nicht beeinflußt. — C. Entsprechende Kurven für den Eintritt von Glykol in isotonischen Glykollösungen mit Zusatz von NaCl, KCl bzw. $CaCl_2$.

Um die Wirkung des Tannins auf die Membrandurchlässigkeit zu untersuchen, müssen daher Verfahren verwendet werden, bei denen die Zellen nicht hämolysieren. Tut man das[68], so zeigt sich, daß die Wirkung des Tannins im Sinne einer Durchtrittsverzögerung zwar besteht, aber etwa verglichen mit derjenigen des Formaldehyds relativ gering ist. Das stimmt mit Modellversuchen von Schulman[47] an monomolekularen Filmen überein, bei denen das Tannin sich am Filmdruck und Filmpotential relativ wenig auswirkte, weil es in die Filmstruktur nicht eindringt, sondern sich nur anlagert, während andere „filmpenetration" zeigende Agentien, die auch am Erythrozyten ausgesprochenere, teils hämolytische Wirkungen zeigen, durch „filmpenetration" den Filmdruck dramatisch steigerten.*

b) Kalzium.

Eine allgemein abdichtende Wirkung des Kalziums auf

* Neuere Untersuchungen von Jacobs c. s. zeigen allerdings stärkste Hemmwirkungen sehr kleiner Tanin-Konzentrationen auf den raschen Anionenaustausch durch die Erythrozytenmembran, ein weiteres frappantes Beispiel einer spezifischen Wirkung.

Zellmembranen wird heute fast axiomatisch angenommen. Abb. 7 zeigt, daß die Penetration des Wassers sowie von Glykol und Glyzerin aus gleich hypotonischen Lösungen von $CaCl_2$, KCl, NaCl praktisch gleich schnell erfolgt.

Es gibt also zum mindesten Fälle, wo mit exakten quantitativen Methoden keinerlei abdichtende Calciumwirkung nachweisbar ist.

Zwei Beobachtungsgruppen haben wahrscheinlich zu unzulässigen Verallgemeinerungen Anlaß gegeben. Einmal Beobachtungen über Kalziumwirkungen an Kapillarwänden im Sinne einer Exsudationshemmung[10], die vermutlich ihre Grundlage haben in der Wirkung des Kalziums auf die interzelluläre Kittsubstanz. Chambers und Zweifach[7] haben in eindrucksvollen Versuchen gezeigt, daß bei Perfusion mit kalziumfreien Lösungen die Kittsubstanz ausgewaschen wird, wodurch es zu extremen Durchlässigkeitssteigerungen kommt. Offenbar bildet Kalzium mit der Substanz einen schwerlöslichen Komplex, der sie stabilisiert, ähnlich wie das für die Blastomeren des Seeigeleis vor langer Zeit von Herbst[21] und für Epithelzellen in Gewebskultur neuerdings von Chambers c. s. gezeigt worden ist[9].

Die zweite Gruppe betrifft Kalziumwirkungen in nicht äquilibrierten reinen Salzlösungen bzw. Anelektrolytlösungen, in denen es zu Änderungen des Membranpotentials und des p_H an der Membrangrenzfläche kommen kann, die teils Permeabilitätsänderungen vortäuschen, teils Änderungen auslösen, die in äquilibrierten Elektrolytlösungen nicht auftreten. Ein Beispiel dafür ist der Salzverlust von Erythrozyten in Zuckerlösungen[58]. Ob und in welchen Fällen Kalzium membrandichtend wirkt, sollte mit quantitativen Methoden noch eingehender geprüft werden. Die Wirkung ist jedenfalls nicht so obligatorisch wie meist angenommen.

c) Schwermetalle.

Schwermetalle haben an der Erythrozytenmembran mindestens drei verschiedene, gegeneinander abgrenzbare Wirkungen: eine kolloid-osmotische Hämolyse durch Aufhebung der Selektivität der Ionendurchlässigkeit (siehe unten), eine nichtosmotische Hämolyse und eine formaldehydartige Wirkung[68, 72]. Die verschiedenen untersuchten Metalle (Hg, Au, Cu, Pb, Fe) zeigen die drei Wirkungen in spezifischen Abstufungen.

Die Wirkungen unterscheiden sich in bezug auf die erforderlichen Konzentrationen, indem im allgemeinen die kolloid-osmotische Hämolyse mit den niedrigsten, die Formaldehydgerbung mit den höchsten Konzentrationen auslösbar ist.

Sie sind außerdem verschieden reversibel. Durch Verdünnen lassen sie sich im allgemeinen gar nicht aufheben. Durch Komplexbildner ist die formaldehydartige Wirkung zu lösen, die Selektivitätsänderung

(kolloid-osmotische Hämolyse) schwerer, und abhängig von der Einwirkungszeit des Metalls. Die Überlegenheit des BAL (Dithioglyzerins) bei der Behandlung der Schwermetallvergiftungen läßt sich hier modellmäßig reproduzieren: verglichen mit Cystein, NaCN, NaCNO zeigt es, besonders nach längeren Einwirkungszeiten, eindeutig die beste Wirksamkeit.

Eine Ausnahme in bezug auf die Reversibilität bildet eine von Jacobs c. s.[33] entdeckte und von uns[59, 68] genauer untersuchte Wirkung gewisser Schwermetalle (vor allem Hg und Cu), die ein weiteres Beispiel für die Wirkungsspezifität ist: die spezifische Hemmung der Glyzerinpenetration durch die Erythrozytenmembran gewisser Tierarten. Sie ist durch Verdünnung reversibel und zeigt dabei quantitative Eigentümlichkeiten, die für die Theorie der Potentialgiftwirkungen von Interesse sind und daher kurz gesondert dargestellt seien.

d) Beziehungen zur Theorie der Potentialgiftwirkungen.

An der von Straub[50] begründeten Vorstellung der Potentialgiftwirkung, insbesondere an ihrer Ausdehnung auf die autonomen Nervengifte ist in letzter Zeit viel Kritik geübt worden, auf die hier nicht einzugehen ist. Offenbar ist in manchen Untersuchungen übersehen worden, daß es sich beim Azetylcholin und Adrenalin um Substanzen handelt, die sehr rasch zerstört werden.

Immerhin ist die Grundbeobachtung von Straub mit Muskarin am Aplysienherzen meines Wissens nie in Zweifel gezogen worden. Eine plausible Erklärungsmöglichkeit für derartige Beobachtungen scheint nun darin zu liegen, daß es sich um Membranwirkungen eindringender Moleküle handelt, die im Inneren der Zelle gebunden werden. Im Fall der genannten Wirkung ließ sich diese Vorstellung quantitativ durchrechnen, wobei sich überzeugende Übereinstimmung mit der Beobachtung ergab.

Photoelektrische Hämolysekurven zeigen zunächst einen unerwarteten Kurventyp, bei dem nämlich nicht der Gesamtverlauf der Kurve verzögert ist, sondern auf eine gewisse Latenzzeit die Hämolyse mit normaler Geschwindigkeit erfolgt[59]. Es läßt sich zeigen, daß das darauf beruht, daß das Quecksilber in die Zellen eindringt und im Inneren vom Hämoglobin abgefangen wird. Seine Wirkung an der Membran bleibt solange bestehen, bis das letzte Quecksilber in die Zellen penetriert und abgefangen worden ist.

Berechnet man unter diesen Voraussetzungen zunächst den zeitlichen Verlauf der Konzentrationsänderung des Quecksilbers in der Außenlösung, so ergibt sich ein linearer Abfall des Logarithmus der Konzentration mit der Zeit. Die Steilheit des Abfalls wird proportional der Gesamtoberfläche der Zellen und damit der Suspensionskonzentration.

Das läßt sich experimentell bestätigen. Aus der Steilheit ergibt sich die Permeabilitätskonstante des Quecksilbers.

Nimmt man weiter an, daß für die Normalisierung der Membranpermeabilität das Unterschreiten einer gewissen Konzentrationsschwelle nötig ist, so lassen sich die Verzögerungszeiten durch verschiedene Quecksilberkonzentrationen mit Hilfe der ermittelten Permeabilitätskonstanten berechnen. Ihr theoretischer Verlauf ist eine Gerade bei

Abb. 8. Verzögerung der Hämolysegeschwindigkeit in isotonischer Glyzerinlösung als Maß der Penetrationsgeschwindigkeit des Glyzerins bei Menschenblut. Zimmertemperatur. Theoretische und beobachtete Abhängigkeit der Verzögerungszeit (Ordinate) vom Logarithmus der Quecksilberkonzentration (Abszisse) bei Variation der Zellkonzentration der Suspension (Zahlen an den Kurven bezogen auf Vollblut = 100%).

Auftragung gegen den Logarithmus der Quecksilberkonzentration. Die Neigung der Geraden ändert sich wiederum mit der Suspensionskonzentration. Die theoretischen und die beobachteten Kurven stimmen in befriedigender Weise überein (Abb. 8).

Ionenpermeabilität und Erregung.

Die Frage der Ionenpermeabilität der Zellmembran ist gegenwärtig eine der interessantesten, weil sie mit wichtigsten Problemen der Physiologie Berührung gewonnen hat.

Als Ausgangspunkt sei folgende Überlegung gewählt, die von Jacobs stammt. Alle Zellen enthalten im Inneren eine wesentlich höhere Eiweißkonzentration als sie sich in der umgebenden Flüssigkeit findet. Daraus ergibt sich mit Notwendigkeit, daß die Zellmembran nicht frei für alle Ionen durchlässig sein kann. Wäre sie das, so müßte Salz eindringen und Wasser nach sich ziehen, es würde eine osmotische Schwellung erfolgen, die zu keinem Gleichgewicht führt, es sei denn, daß ein Stützgewebe die Schwellung aufhält.

Ein Beispiel für die Richtigkeit dieser Überlegung ist die kolloid-osmotische Hämolyse[61]. Erythrozyten gelten als durchlässig für Anionen und undurchlässig für Kationen. Werden sie für Kationen durchlässig, so tritt Salz und Wasser ein und die erfolgende Schwellung führt zu Hämolyse. Solche Hämolysen, die als kolloid-osmotisch bezeichnet wurden, sind erkennbar an der Verschiebung der osmotischen Resistenz, wie sie beim Eindringen von Substanzen zustande kommt, und es hat sich gezeigt, daß dieser Typ der Hämolyse sehr häufig ist. Die Mehrzahl der hämolytischen Agentien wirkt auf diese Weise, so z. B. Narkotika, Schwermetalle (siehe oben), Säure, Alkali, Wärme, Ultraviolett, Röntgenstrahlen, sichtbares Licht nach Sensibilisierung, Eiweißdenaturantien.

Die Verschiebung der Resistenzkurven ist nicht das einzige Kriterium, das für die kolloid-osmotische Natur einer Hämolyse benutzt werden kann. Ein quantitativer Test (Kompensationstest) beruht auf folgender Überlegung[67]. Wird die Hämolyse durch den kolloid-osmotischen Mechanismus ausgelöst, so müßte man den osmotischen Druck des Hämoglobins durch ein nichtpenetrationsfähiges Molekül kompensieren können. In vielen Fällen bleibt die Membran für Rohrzucker undurchlässig und Rohrzucker kann verwendet werden. Es läßt sich berechnen, daß je nach Konzentration des Rohrzuckers sich dann Gleichgewichtsvolumina einstellen müssen, die durch Schrumpfung oder durch Schwellung erreicht werden und deren Wert vom p_H abhängt. Die experimentell bestimmten Gleichgewichtsvolumina stimmen befriedigend mit den Berechnungen überein.

Die Überlegung, daß eine eiweißhaltige Zelle nicht frei ionendurchlässig sein kann, führt zu der Frage, in welcher Weise die Ionendurchlässigkeit beschränkt ist. Man hat lange Zeit angenommen, daß es sich um selektiv ionenpermeable Membranen handelt, die entsprechend der Ladung ihrer Substanz entweder für Kationen oder für Anionen durchlässig sind. Schöne Untersuchungen von Boyle und Conway[5] haben wahrscheinlich gemacht, daß ein anderes Einschränkungsprinzip verwendet ist, nämlich das der Porosität. Die Autoren haben gezeigt, daß die Muskelzelle sich osmotisch verhält, als ob sie für Kalium und Chlorid durchlässig wäre, für Natrium und Phosphat undurchlässig. Diese Anschauung ist nicht unbestritten geblieben, hat aber heute recht festen Fuß gefaßt. Conway hält diesen Typ der Ionenpermeabilität für den Standardtyp der lebenden Zellen und hat experimentell wahrscheinlich gemacht, daß auch die Leber- und Nierenzellen demselben Gesetz folgen[14].

Es besteht nun aber die Möglichkeit, daß die Undurchlässigkeit für Natrium vorgetäuscht ist durch einen kontinuierlichen aktiven Transport von Natrium aus dem Zellinneren nach außen. Anhaltspunkte für solche Transporte sind von Krogh[35] an verschiedenen Objekten gesammelt

worden, beim Muskel spricht für normalerweise bestehende Natriumpermeabilität ferner die Tatsache, daß die Leitfähigkeit der Muskelmembran durch Natrium beeinflußt wird (HODGKIN[28]). Vor allem aber ist ein Prozeß, der Natrium aus der Zelle heraus befördert, nach den neueren Resultaten in der Nervenphysiologie eine kaum mehr zu entbehrende Annahme geworden. Eine kurze skizzenhafte Darstellung dieser Entwicklung möge das zeigen.

Die BERNSTEIN-HÖBERsche Theorie des Ruhestroms, die im wesentlichen unerschüttert ist, nimmt bekanntlich an, daß das Membranpotential durch den Konzentrationsunterschied von Kalium innen und außen bei selektiver Durchlässigkeit der Membran für Kalium zustande kommt. Für das Aktionspotential wurde zunächst angenommen, daß diese selektive Durchlässigkeit vorübergehend aufgehoben wird, so daß das Ruhepotential auf Null sinkt. HODGKIN und HUXLEY[27] haben nun zunächst für den Nerven in einer wichtigen Arbeit an der Riesenfaser des Tintenfischs gezeigt, daß das Potential in Wirklichkeit nicht nur auf Null sinkt, sondern sich umkehrt. Inzwischen sind entsprechende Versuche an Einzelfasern des Muskels und des Reizleitungssystems des Herzens gemacht worden[54]. Ferner haben HODGKIN und KATZ[30] gezeigt, daß die Umkehr des Potentials von der Natriumkonzentration in gleicher Weise abhängt, wie das Ruhepotential von der Kaliumkonzentration. Es ergibt sich daraus recht überzeugend, daß die Membran im Moment der Erregung hochgradig für Natrium durchlässig wird. In neuesten eindrucksvollen Untersuchungen ist es HODGKIN, HUXLEY und KATZ[29] nun gelungen zu zeigen, daß die Natriumdurchlässigkeit der Membran eine Folge der Membrandepolarisation ist. Da sie zu einer weiteren Entladung durch den Eintritt des Natriums führt, ist so ein selbstauslösender Mechanismus für das Aktionspotential gegeben, der den ganzen Ablauf des Aktionspotentials weitgehend verständlich macht. Wichtig ist dabei, daß neben der Natriumdurchlässigkeit und zeitlich nicht gleichzeitig, sondern später, eine erhöhte Kaliumdurchlässigkeit auftritt. Es handelt sich also nicht um einen Austausch von Natrium gegen Kalium, sondern um unabhängige und zeitlich nicht identische Permeabilitätsänderungen.

Die Situation ist demnach heute die, daß wir offenbar vor einer Aufklärung einer der wichtigsten Lebenserscheinungen, nämlich der Erregungsleitung im Nerven stehen, und daß die wesentlichen Probleme, die zu lösen bleiben, Permeabilitätsprobleme sind.

Es sind in der Hauptsache zwei: erstens die Frage, wie die Durchlässigkeitsänderung der Membran bei veränderter elektrischer Ladung zustande kommt, spezifisch für Natrium und spezifisch für Kalium, und zweitens (was zu den vorherigen Überlegungen zurückführt): wie das Natrium, das während der Erregung eingedrungen ist, wieder entfernt wird.

Für die Beantwortung der ersten Frage schlagen die genannten Autoren einen Trägermechanismus vor, bei dem ein elektronegativer lipoidlöslicher Träger in der Membran, der bei aufgeladener Membran an eine Membranseite gedrängt ist, bei Entladung der Membran transportfähig wird. Der Transport müßte auf der Bildung eines Komplexes mit Natrium beruhen.

Es sei die Mutmaßung erlaubt, daß dieser Mechanismus von pharmakologischer Bedeutung sein kann. Rosenberg[43] hat darauf hingewiesen, daß ähnliche Komplexe in Form von Chelatbildung bei denjenigen Ölen zu erwarten sind, die in den bekannten Versuchen von Beutner[3] über Ölketten sich als gut wirksam erwiesen haben. Es ist nun bemerkenswert, daß die stickstoffhaltigen Schlafmittel ähnliche Konstitution aufweisen und vielleicht für solche Transportfragen von Bedeutung sein können.

Was die zweite Frage, die „Natriumpumpe" betrifft, so scheint ein ähnlicher Trägermechanismus, der mit dem Stoffwechsel der Zelle verknüpft sein müßte, heute die aussichtsreichste Annahme. Es ist nicht uninteressant, daß möglicherweise bei den roten Blutkörperchen eine ähnliche Situation besteht. Daß auch hier die Kationenundurchlässigkeit möglicherweise vorgetäuscht ist durch geringe Kationendurchlässigkeit in Kombination mit einer „Kationenpumpe", wird unter anderem wahrscheinlich durch Versuche mit Radioisotopen, in denen sich die Erythrozyten als nicht unbeträchtlich kationendurchlässig erwiesen haben (z. B.[39], weitere Beobachtungen siehe bei [22]). Hier liegt also ein Problem vor, das sich sehr wohl mit demjenigen der erregbaren Zellen berühren kann. Die Annahme liegt um so näher, als auch hier frappante Ionendurchlässigkeitsänderungen bei Änderungen des elektrischen Potentials in Form des Salzverlustes in Nichtleiterlösungen bekannt sind[58, 68].

Zuckerpermeabilität und aktiver Transport.

Zu ähnlichen Vorstellungen bezüglich der Wirksamkeit lipoidlöslicher „Membranträger" haben Versuche auf einem ganz anderen Gebiet geführt, nämlich in bezug auf die Zuckerdurchlässigkeit der Zellmembran, wovon abschließend berichtet werden soll.

Es ist seit langem bekannt, daß in bezug auf die Zuckerresorption sowohl im Darmepithel als in der Niere eine Reihe von Eigentümlichkeiten festzustellen sind, die mit der Annahme eines Diffusionsausgleiches im Widerspruch stehen. In beiden Organen werden verschiedene Monosaccharide mit großer Selektivität resorbiert[15, 24], die auf Unterschiede in der Molekulargröße oder der Lipoidlöslichkeit nicht bezogen werden kann. Die Resorption ist weiterhin nicht proportional der Konzentration[53], sondern weitgehend konzentrationsunabhängig und verschiedene Zucker hemmen sich gegenseitig bei gleichzeitiger Anwesenheit[15].

Schließlich ist gezeigt worden, daß in beiden Organen bestimmte Stoffwechselgifte die Resorption aufheben oder hemmen, so Jodazetat am Darmepithel[71], Phlorizin bei beiden und eine Reihe von weiteren Fermentgiften, die später geprüft worden sind.

Es sind an diese Beobachtungen im wesentlichen zwei Vorstellungen geknüpft worden. Einmal wurde angenommen[71], daß eine Beziehung zu Phosphorylierungsprozessen besteht. Die Bedeutuug der Phosphorylierung, die zunächst intrazellulär angenommen wurde, wurde darin gesehen, daß durch das Abfangen der penetrierten Glukosemoleküle der Diffusionsgradient steil gehalten wird, entsprechend Vorstellungen, die schon 1899 von Höber[23] und später von Verzár[52] entwickelt worden sind.

Die Vorstellung ist zunächst deshalb unbefriedigend, weil die Beschleunigung der Diffusion durch einen solchen Abfangprozeß berechenbar ist und im Maximum 100% betragen kann, während die tatsächlichen Resorptionsunterschiede zwischen verschiedenen Zuckern und zwischen der unvergifteten und der vergifteten Resorption größer sind. Außerdem kann der Mechanismus nur eine Beschleunigung erklären und nicht einen aktiven Transport von niederer auf höhere Konzentration, wie er später von Barany und Sperber[1] für die Darmresorption gezeigt wurde und für die Nierenresorption seit langem bekannt ist.

Die zweite Vorstellung, die teils mit, teils ohne Einbeziehung der Phosphorylierungsannahme gemacht worden ist, ist die eines intrazellulären Trägermechanismus, der mit dem Stoffwechsel der Zelle irgendwie verknüpft sein muß und der den Zucker von einem Ende der Zelle zum anderen zu transportieren hätte. Solche Vorstellungen sind von Krogh[35], Shannon und Fisher[44], Höber[26] und anderen nicht nur für die Zuckerresorption, sondern für andere aktive Resorptionsprozesse entwickelt worden.

Die Untersuchung der Zuckerdurchlässigkeit der Erythrozytenmembran hat nun zu Resultaten geführt, die möglicherweise einen Schritt weiterführen. An Einzelzellen sind gewisse Versuchsanordnungen möglich, die sich bei Zellverbänden nicht durchführen lassen und es lassen sich daher Fragen entscheiden, die bei resorbierenden Organen unzugänglich sind.

Es ist seit langem bekannt[34], daß auch am Erythrozyten bezüglich der Zuckerdurchlässigkeit hohe Spezifitäten bestehen. Sie beziehen sich einmal auf die Durchlässigkeit bei den Zellen verschiedener Tierarten, so sind die Aldosen bei menschlichen Blutkörperchen relativ besser penetrationsfähig, die Ketosen bei Hundeblutkörperchen, während die Erythrozyten der meisten Tierarten überhaupt nur eine sehr geringe Zuckerdurchlässigkeit zeigen, insbesondere diejenigen, die schlecht glykolysieren[56].

Die frappanteste chemische Spezifität hat sich ergeben bei der Untersuchung der optischen Antipoden zweier Pentosen, der Xylose und der Arabinose. Unter gleichen Versuchsbedingungen dringt d-Arabinose leicht, l-Arabinose gar nicht ein, l-Xylose leicht, d-Xylose gar nicht[66].

Weitere Parallelen zum Darm und der Niere ergaben sich bei der Untersuchung der Konzentrationsabhängigkeit[69].

Schließlich zeigen auch hier verschiedene Zucker gegenseitige Hemmung beim Durchtritt, so daß die Frage sich stellte, ob ähnliche Verhältnisse wie beim Darm und der Niere vorliegen. Die zunächst untersuchten Stoffwechselgifte Fluorid und Jodazetat, die am Darmepithel stark hemmen, zeigten keine Wirkung. Dagegen erwies sich das Phlorizin, das sowohl am Darm als an der Niere stark wirksam ist, auch hier aktiv[66]. Damit war eine recht frappante Parallele zu Darm und Niere hergestellt und es ergab sich, sofern es sich bei den beiden Zellarten um ähnliche Prozesse handelt, was kaum mehr zweifelhaft sein konnte, eine erste wichtige Konsequenz. Wenn ein Trägermechanismus im Sinne der geschilderten Annahme vorliegt, so muß der Träger nicht intrazellulär, sondern in der Membran lokalisiert sein. (Das ist an sich schon a priori zu erwarten, weil intrazellulär praktisch kein Diffusionshindernis bestehen dürfte.)

Die Übertragung der Annahme einer Phosphorylierung auf die Erythrozytenmembran würde zu der weiteren Modifikation führen, daß auch diese Phosphorylierung außerhalb der Membran stattfinden müßte, da ein transzellulärer Transport hier gar nicht vorliegt. Damit wäre die Frage gestellt, wozu eine Phosphorylierung in bezug auf die Penetration dienen könnte, was zunächst nicht ersichtlich ist. Die Verbindung mit der Phosphorsäure führt zu einem größeren und ionisierten Molekül, das höchstwahrscheinlich schlechtere Penetrationsbedingungen haben wird, als die Glukose selbst. Versuche mit verschiedenen Phosphorsäureestern, insbesondere dem Glukose-6-Phosphat, das in erster Linie in Betracht zu ziehen ist, bestätigen diese Vermutung: während Glukose in die Erythrozyten eindringt, penetrieren die Ester nicht[68].

Eine interessante Annahme, die von Rosenberg[42, 43] gemacht worden ist, bietet möglicherweise einen Ausweg, und die folgenden Untersuchungen sind in Gemeinschaft mit Rosenberg durchgeführt worden. Die Annahme ist die, daß bei der Phosphorylierung der Glukose durch Adenosintriphosphorsäure unter der Wirkung der Hexokinase als Zwischenprodukt ein Hexose-Metaphosphat-Ester entsteht, wahrscheinlich nach vorheriger Anlagerung der Glukose an die Adenosintriphosphorsäure. Diese Annahme, die verschiedene Stützen hat, ist für die Frage der Membranpenetration deshalb interessant, weil der entstehende Ester nicht ionisiert wäre und möglicherweise eine gewisse Lipoidlöslichkeit besitzen würde.

Es wurde daher als erste Arbeitshypothese für die weiteren Versuche die Vorstellung gebildet, daß an der Außenseite der Membran die Glukose durch Hexokinase phosphoryliert wird, als Glukosemetaphosphat durch die Membran penetriert und an der Innenseite der Membran durch Phosphatase gespalten wird. Die Wirkung des Phlorizins würde sich in diesem Fall auf die Spaltung durch die Phosphatase beziehen.

Als Stützen für diese Vorstellung konnten bisher folgende Resultate erhalten werden[68]. Erstens wirkt nicht nur Phlorizin hemmend, sondern in noch stärkerer Weise sein Aglukon, das Phloretin, das auch Phosphatase stärker hemmt. Die wirksamen Konzentrationen stimmen mit denjenigen bei der Phosphatasehemmung etwa überein. Zweitens ließ sich zeigen, daß die Hemmung durch Phlorizin davon abhängt, auf welche Membranseite es einwirkt. Nach der entwickelten Arbeitshypothese sollte es auf der Seite des Glukoseaustritts aus der Membran wirken. Tatsächlich ist seine Wirkung auf dieser Seite mindestens sehr viel stärker als auf der anderen. Die Frage ist prüfbar, weil Phlorizin nur langsam durch die Membran penetriert. Setzt man es der Außenlösung einer Erythrozytensuspension zu und verfolgt den Glukosedurchtritt durch die Membran in beiden Richtungen, so zeigt sich in einem bestimmten Konzentrationsbereich gar keine Hemmung der Glukosepenetration von außen nach innen, dagegen fast vollständige Hemmung in der umgekehrten Richtung.

Schließlich wurden eine Reihe von Hexokinasegiften geprüft, die allerdings nur wenig spezifisch sind. Von Dixon und seiner Gruppe[18] ist gezeigt worden, daß die Reizstoffe starke Hexokinasehemmung zeigen, was auf Reaktion mit Sulfhydrylgruppen bezogen wird. Wir hatten Gelegenheit von diesen Substanzen Chlorpikrin, Bromazetophenon und Allylsenföl zu prüfen. Alle drei Substanzen hemmen den Glukoseeintritt zunehmend mit steigender Konzentration und können ihn vollständig blockieren. Auch der Austritt wird gehemmt. Ähnliche Resultate sind mit Quecksilber und Gold erzielt worden, die für starke Sulfhydrylaffinität bekannt sind.

Wie weit die entwickelten Vorstellungen sich im einzelnen halten werden, ist noch nicht zu entscheiden. Das Hauptgewicht möchten wir vorderhand auf den Nachweis legen, daß die Glukosepenetration durch die Erythrozytenmembran ein fermentativer Prozeß ist, daß die beiden Seiten der Membran verschiedene Bedeutung für die Penetration besitzen und daß mindestens zwei Fermente am Penetrationsprozeß beteiligt sind.

Es ist kaum zweifelhaft, daß die Elemente des Transportsystems mit denjenigen in den Nieren- und Darmzellen weitgehend übereinstimmen. In einem Punkt allerdings muß ein wichtiger Unterschied bestehen: in den resorbierenden Zellen muß der Membrantransport auf eine Richtung

beschränkt sein, vielleicht durch einseitige Fermentlokalisation, denn beide zeigen aktiven Transport im thermodynamischen Sinn. Am Erythrozyten konnte bisher keine Akkumulation nachgewiesen werden.

Der Zweck dieses Referats war in erster Linie zu zeigen, daß die Penetration durch die Zellmembran sich nicht auf die Passage einer mehr oder weniger fixen Struktur mit bestimmten physikalischen Eigenschaften beschränkt. Die Fragwürdigkeit von Wirkungsdeutungen im Sinn einer allgemeinen „Permeabilitätsverminderung" oder „Permeabilitätserhöhung" wird immer deutlicher. Sie wird noch krasser, wenn etwa noch die Durchlässigkeit der Kapillarwände mit einbezogen wird, besteht aber auch bei Beschränkung auf die Zellmembran. Die Membranpenetration ist ein komplexer Vorgang mit hohen Spezifitäten und wird von der Zelle für aktive Zelleistungen als ein Teil der Zellmaschinerie benützt. Eine Parallele zur Atmungskatalyse liegt nahe. Wenn man etwa vor 50 Jahren noch annehmen konnte, ein Ferment, „das Atmungsferment", sei die Grundlage der biologischen Verbrennung, so hat die Zwischenzeit gelehrt, wie weit eine solche Vorstellung von der Wirklichkeit entfernt ist. Vielleicht stehen wir in bezug auf die Permeabilität am Beginn einer ähnlichen Entwicklung.

Literatur.

[1] Barany, E., and E. Sperber: Scand. Arch. Physiol. **81**, 290 (1939). — [2] Bayliss, L. E., P. M. T. Kerridge, and D. S. Russell: J. Physiol. **77**, 386 (1933). — [3] Beutner, R.: Die Entstehung elektrischer Ströme in lebenden Geweben. Stuttgart 1920. — [4] Bohlmann, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 317 (1944). — [5] Boyle, P. J., and E. J. Conway: J. Physiol. **100**, 1 (1941). — [6] Brues, A. M., and McT. Masters: Am. J. Cancer **28**, 324 (1936). — [7] Chambers, R., and B. W. Zweifach: J. cell. comp. physiol. **15**, 255 (1940). — [8] Chambers, R., and B. W. Zweifach: Physiol. Rev. **27**, 436 (1947). — [9] Chambers, R., G. Cameron, and C. G. Grand: Acta Unio Internat. contra Cancrum **6**, 696 (1949). — [10] Chiari, R., and Januschke: Wien. klin. Wschr. **23**, Nr. 12 (1910). — [11] Cole, K. S.: Cold Spring Harbor Symp. VIII, 110 (1940). — [12] Collander, R.: Soc. Sci. fenn. Comm. Biol. **2**, 6 (1926). — [13] Collander, R., and H. Bärlund: Acta Botan. Fennica **11**, 1 (1933). — [14] Conway, E. J., O. Fitzgerald, and T. C. Macdougald: J. general Physiol. **29**, 305 (1946). — [15] Cori, C. F.: J. biol. Chem. **66**, 691 (1925). — [16] Danielli, J. F., and A. Stock: Biolog. Reviews **19**, 81 (1944). — [17] Davson, H., and J. F. Danielli: The Permeability of Natural Membranes, Cambridge 1943. — [18] Dixon M.: The biochemical reactions of chemical warfare agents. Bioch. Soc. Symp. Nr. 2, Cambridge 1948. — [19] Exner: Plogg. Ann. Physik **155**, 321 u. 443 (1875). — [20] Guensberg, E.: Dissertation, Bern 1947. — [21] Herbst, C.: Arch. Entw. mech. **9**, 424 (1900). — [22] Hevesy, G.: Radioactive Indicators, New York u. London 1948. — [23] Höber, R.: Pflügers Arch. **74**, 246 (1899). — [24] Höber, R.: Pflügers Arch. **233**, 181 (1933). — [25] Höber, R.: Naturwiss. **24**, 196 (1936). — [26] Höber, R.: Physical chemistry of cells and tissues, Philadelphia 1945. — [27] Hodgkin, A. L., and A. F. Huxley: J. Physiol. **104**, 176 (1945). — [28] Hodgkin, A. L.: J. Physiol. **106**, 319 (1946). — [29] Hodgkin, A. L., A. F. Huxley, and B. Katz: im Druck. — [30] Hodgkin,

A. L., and B. Katz: J. Physiol. **108**, 37 (1948). — [31] Jacobs, M. H.: Proc. Ann. Philos. Soc. **120**, 363 (1931). — [32] Jacobs, M. H.: J. cell. comp. physiol. **4**, 161 (1934). — [33] Jacobs, M. H., H. N. Glassman, and A. K. Parpart: J. cell. comp. physiol. **7**, 197 (1935). — [34] Kozawa: Bioch. Z. **60**, 231 (1914). — [35] Krogh, A.: Proc. Roy. Soc. B. 1946, **133**, 140 (1945). — [36] Landis, E. M.: Am. J. Physiol. **82**, 217 (1927). — [37] Meyer, K. H., u. T. Sievers: Helv. Chim. Acta **17**, 948 (1936). — [38] Michaelis, L., u. A. Fujita: Bioch. Z. **161**, 47 (1925). — [39] Mullins, L. J., W. O. Fenn, T. R. Noonan, and L. Haege: Am. J. Physiol. **135**, 93 (1941). — [40] Rashewsky, N., and H. D. Landahl: Cold Spring Harbor Symp. VIII, 9 (1940). — [41] Rideal, E. K.: Trans. Far. Soc. **33**, 1081 (1938). — [42] Rosenberg, Th.: Acta Chem. Scand. **2**, 14 (1948). — [43] Rosenberg, Th.: persönliche Mitteilung. — [44] Shannon and Fisher: Am. J. Physiol. **122**, 765 (1938). — [45] Schmengler, F. E., u. R. Höber: Pflügers Arch. **233**, 199 (1934). — [46] Schönfolder, S.: Planta **12**, 414 (1931). — [47] Schulman, J. H.: Trans. Far. Soc. **33**, 1116 (1937). — [48] Shapiro, H., and A. K. Parpart: J. cell. comp. physiol. **10**, 147 (1937). — [49] Starling, E. H.: J. Physiol. **19**, 312 (1896). — [50] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 127 (1907). — [51] Teorell, T.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **33**, 282 (1935). — [52] Verzàr, F.: Erg. Physiol. **32**, 391 (1931). — [53] F. Verzar: Biochem. Z. **276**, 17 (1935). — [54] Weidmann, S.: persönliche Mitteilung. — [55] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **241**, 289 (1938). — [56] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **241**, 302 (1938). — [57] Wilbrandt, W.: Erg. Physiol. **40**, 204 (1938). — [58] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **243**, 537 (1940). — [59] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **244**, 637 (1941). — [60] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **245**, 1 (1941). — [61] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **245**, 22 (1941). — [62] Wilbrandt, W.: Verhandlungsberichte Schweiz. Physiol., Jan. 1942. — [63] Wilbrandt, W.: Tabulae Biologicae, Band XIX (1942). — [64] Wilbrandt, W.: Pflügers Arch. **250**, 576 (1945). — [65] Wilbrandt, W.: Helv. Med. Acta **13**, 143 (1946). — [66] Wilbrandt, W.: Helv. Physiol. Acta **5**, C 64 (1947). — [67] Wilbrandt, W.: Helv. Physiol. Acta **6**, 234 (1948). — [68] Wilbrandt, W.: unveröffentlicht. — [69] Wilbrandt, W., E. Guensberg, u. H. Lauener: Helv. Physiol. Acta **5**, C 20 (1947). — [70] Wilbrandt, W., u. H. Heimann: Helv. Physiol. Acta **6**, 750 (1948). — [71] Wilbrandt, W., u. L. Laszt: Biochem. Z. **259**, 398 (1933.) — [72] Wilbrandt, W., u. H. U. Wyss: Helv. Physiol. Acta **5**, 457 (1947). — [73] Zweifach, B. W.: Cold Spring Harbor Symp. VIII, 216 (1940).

Diskussion. Kiese: Küsel hat in unserem Laboratorium gezeigt, daß die Elimination von Natrium und die Aufnahme von Kalium an den Stoffwechsel der roten Zellen gebunden ist. Rote Zellen verlieren in der Kälte Kalium und nehmen Natrium auf. Bei 37° C und Gegenwart von Glukose wird Kalium wieder aufgenommen und Natrium ausgeschieden. Hemmung der Gärung durch Fluorid unterbindet die Kaliumaufnahme und bewirkt eine weitere Verminderung des Kaliumgehaltes der Zellen. Steigerung der Atmung der roten Zellen durch Nitrosobenzol beschleunigte die Kaliumaufnahme in einigen Versuchen und hemmte sie in anderen.

Druckrey führt als Beispiel für die langsame Permeiergeschwindigkeit der Hexosophosphorsäureester eigene unveröffentlichte Versuche an substratverarmtem Speicheldrüsengewebe an. Dieses reagiert in substratfreier Lösung nicht mehr auf Reize z. B. Azetylcholin mit dem typischen Erregungsstoffwechsel, wohl aber nach Zusatz von Glykose oder Milchsäure. Hexosemono und -diphosphat sind dagegen wirkungslos.

Auf den Hinweis, daß der K^+-Na^+-Austausch an der erregten Muskelzelle kein eng gekoppelter Prozeß ist, wird von Malorny bemerkt, daß unter CO_2-Einfluß in Ruhe gleichsinnige K^+- und Na^+-Bewegungen in Richtung Muskelfaser auftreten. Die Alkaliaufnahme in die säuregefährdete Muskelzelle dienen der

Erhöhung der Pufferkapazität und sind von einem H^+-Austritt begleitet. Malorny fragt ferner an, ob etwas über eine Änderung der Zellpermeabilität bei der Azidose bekannt sei.

Rothschuh: Das Verhältnis von Verletzungs-(Ruhe-)potential und Aktionspotential ist nur dann ein Permeabilitätsphänomen, wenn die Messungen an einer einzelnen Faser gemacht werden. Andernfalls ist es ein Abgriffsphänomen wie am Herzen, wo das Verletzungspotential durchweg halb so groß ist wie das Aktionspotential. Die Befunde sind vom Nerven erst dann auf die Skelett- und Herzmuskulatur zu übertragen, wenn Messungen an einzelnen Fasern hier das gleiche Ergebnis haben.

Fleckenstein: Allylsenföl und zahlreiche andere Stoffe mit stärkster sensibler Reizwirkung hemmen nach unseren Versuchen besonders die Dehydrasen des Zitronensäurezyklus. Die dehydrasenhemmenden Grenzkonzentrationen (Versuche mit Triphenyltetrazoliumchlorid) stimmen mit den — bei intrakutaner Injektion am Menschen — noch schmerzerregenden Grenzkonzentrationen ziemlich gut überein. Eine Hemmung der Hexokinase durch Allylsenföl ist wohl erst bei Einwirkung stärkerer Konzentrationen zu beobachten.

Heubner: Studien an Adstringentien haben mich zu der Auffassung geführt, daß auch bei ihnen besondere, mehr oder weniger elektive Affinitäten zu bestimmten Eiweißkörpern im Spiele sind. Trifft diese Auffassung zu, so müßte allerdings gefolgert werden, daß in kollagenen Fasern und Membranen wie in den Stromata der Blutkörperchen ähnliche Eiweißkörper vorkommen.

Gäbelein: Die Permeabilität ist ja ohne Zweifel eng verknüpft mit den Vorgängen, die sich an Na^+ und K^+ bzw. Cl' und ihrem Verhalten im Gewebe erkennen lassen. Diesen Vorgängen dürfte jedoch nur sekundäre Bedeutung beizumessen sein, die offenbar selbst wieder dirigiert werden durch den primären Vorgang der Energiewanderung in biologischen Systemen. Dieser Leitungsvorgang hat in den Photosensibilisatoren ein modellartiges Vorbild, das sich in Vitamin B_1 wiederholt. Das Wesentliche ist dabei, daß eine Energieform, wie z. B. die Lichtwelle sie darstellt, durch ein solches Molekül transformiert wird und in der neuen Form die Ionenbilanz stark verschieben kann.

Muschaweck: Wir haben in letzter Zeit im Anschluß an unsere früheren Untersuchungen über die kapillarabdichtende Wirkung von Rutin (Rutinion) eine größere Anzahl von Stoffen in dieser Hinsicht geprüft. Als ähnlich stark wirksam wie Rutin haben sich an der enthaarten Bauchhaut der Ratte im Saugverfahren folgende Substanzen erwiesen:

Im Kapillartest (Saugmethode) *untersuchte Substanzen.*
(100 mg Substanz/kg Ratte) Im allgemeinen wurden Na-Salze verwendet.

wirksam:	*wenig bzw. unwirksam:*
p-Aminobenzoesäure	Glykokoll
p-aminobenzoes. Ca	Glykokollester-Chlorhydrat
p-Aminobenzolsulfosäure	Glutaminsäure
Ligninsulfosäure	Salicylsäure
Fluorescëin-Natrium	Asparaginsäure ?
p-Aminosalicylsäure	
Gallussäure	

weitere von uns untersuchte Substanzen:
Quercetin
Quercetinsulfosäure
Rutin (Rutinion) und Abkömmlinge

Wirkungsstärke: Para > Ortho > Meta-Aminobenzoes.
p-Aminosalicylsäure > Salicylsäure

Besonders bedeutsam erscheint uns, daß die p-Aminobenzoesäure überhaupt zu den stärksten kapillardichtenden Stoffen gehört, dasselbe scheint auch für die lokalanästhetischen Ester dieser Säure zu gelten. Die meisten der anderen Stoffe zeichnen sich durch reaktionsfähige Hydroxylgruppen aus, die zur Chinonbildung befähigt sind. Besonders durch die Gallussäure ergeben sich engste Beziehungen zu den Gerbstoffen.

Die membrandichtende Wirkung hängt wahrscheinlich mit dieser gerbenden Wirkung zusammen.

E. Vanremoortere, M. Goffart u. Z. M. Bacq (Lüttich): Kaliumsensibilisatoren.

Ich weiß die Ehre, heute vor dieser Versammlung das Wort ergreifen zu dürfen, in vollem Umfange zu würdigen. Aber obwohl es mir ein ganz besonderes Vergnügen bereitet, hier zu sprechen, so muß ich doch nachdrücklich erklären, daß ich an diesem Rednerpult nur stehe als Vertreter eines Laboratoriums und der dort tätigen Mitarbeiter, die unter der Leitung von Prof. Dr. Bacq arbeiten. Als seinerzeit dieser Kongreß geplant wurde, hatte Prof. Dr. Bacq gehofft, selbst das Wort ergreifen zu können. Widrige Umstände haben die Ausführung dieser anfänglichen Absicht verhindert. Als schließlich ich beauftragt wurde, diesen Vortrag zu halten, habe ich mich nicht ohne große Besorgnis an die Arbeit gemacht, denn das Gebiet ist recht schwierig, und ich verfügte über wenig Zeit. Glücklicherweise hatten Prof. Dr. Bacq und Dr. Goffart über die Kaliumsensibilisatoren einen eingehenden Bericht vorbereitet, der in Kürze in den „Ergebnissen der Physiologie" erscheinen wird*. Sie verfehlten nicht, mir alle Literaturangaben, die sie im Laufe ihrer Arbeit gesammelt hatten, mitzuteilen, auf denen mein heutiger Bericht fußt. Falls dieser Bericht Sie interessieren sollte, bitte ich Sie, sich vor Augen zu halten, daß ich ihn ohne diese Hilfe nicht geschrieben haben könnte. Ich rechne es mir zur Ehre an, wenn Sie die Irrtümer und die Lücken und die Unrichtigkeiten, die Sie ohne Zweifel feststellen werden, mir zur Last legen wollen.

I. Einführung: Definition und allgemeine Bedeutung der Kaliumsensibilisation.

Die Bezeichnung „Kaliumsensibilisation" wurde zuerst auf die Pharmakologie des Veratrins angewendet und ist unter Bedingungen entstanden, die es wert sind, kurz in Erinnerung gebracht zu werden.

Während seines Aufenthaltes in Lüttich im Jahre 1939 hat Szent-Györgyi seine Idee einer experimentellen Untersuchung folgender

* Für ergänzende Einzelheiten verweisen wir auf diese Arbeit[52] ebenso wie auf die Übersicht, die von O. Krayer und G. H. Acheson der Pharmakologie des Veratrins gewidmet ist[87]. H. Schaefer's neuere Arbeit wird auch mit großem Interesse gelesen werden (Ergebnis der Physiol., **46**, 71 (1950).

Arbeitshypothese, die die besondere Wirkung des Veratrins auf den quergestreiften Muskel erklären sollte, Bacq und Goffart vorgetragen und sie zu ihrer Bearbeitung angeregt: Das Veratrin soll eine „Kontraktionssubstanz" stabilisieren und hierdurch die Arbeit des quergestreiften Muskels nach vorhergehender Reizung verlängern, in der gleichen Weise, wie Eserin den Effekt der „Reizsubstanz" Azetylcholin stabilisiert. Diese stabilisierte „Kontraktionssubstanz" sollte in ein Perfusat übergehen und auf ein anderes Präparat einwirken können. Man konnte im Experiment diesen letzten Punkt nachprüfen: Quergestreifte Muskeln von zwei Fröschen werden nacheinander nach der Methode von Trendelenburg mit Veratrin 1:10000 in Ringerlösung durchströmt. Die Faradisation der Muskeln des ersten Frosches macht dann in dem Infusat eine Substanz frei, die nach einer Latenzzeit von etwa 10 min die Verkürzung der in Ruhelage befindlichen Muskeln des zweiten Frosches herbeiführt, selbst wenn letzterer mit Curare behandelt worden ist[12, 4, 13]. Die Analyse hat erwiesen, daß es sich bei diesem Phänomen nicht im eigentlichen Sinne um eine Stabilisierung einer „Kontraktionssubstanz" handelt, sondern um eine Sensibilisation der Muskeln des zweiten Frosches gegenüber der direkten Reizung, die das durch die Faradisation der Muskeln des ersten Frosches freigewordene Kalium ausübt. Diese Kaliumsensibilisation der quergestreiften Muskeln der Amphibien kann ganz eindeutig am M. rectus abdominis, wenn er isoliert ist, nachgewiesen werden (Bacq[6]): die isotone Kontraktion, die durch kleine Dosen KCl hervorgerufen wird, wird verzehnfacht, nachdem der Muskel während einiger Minuten der Wirkung von Veratrin $1 \cdot 10^{-6}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ ausgesetzt worden ist. Dieses einfache Verfahren, das eine genaue Vorstellung von der quantitativen Bedeutung des Phänomens gibt, ist seither vielfach zur Identifizierung und zum Studium der „Kaliumsensibilisatoren" angewendet worden: die Bezeichnung „Kaliumsensibilisatoren" ist allen den Stoffen beigelegt worden, die die Verkürzung des M. rectus abdominis von Amphibien, die durch eine überschwellige Dosis von Kaliumionen hervorgerufen worden war, merkbar vergrößern. Wenn das der Fall ist, und wenn der Muskel nach wiederholten Spülungen seine frühere Erregbarkeit wiedererlangt, so sind nach unserer Meinung die Voraussetzungen gegeben, um eine solche Substanz den Kaliumsensibilisatoren zuzurechnen.

Dabei wird ferner vorausgesetzt, daß diese Substanzen bei einer solchen Konzentration untersucht werden müssen, die selbst keine Verkürzung des Muskels hervorruft. In diesem Bericht wird alles das, was die „Kontraktur" des isolierten Muskels durch Koffein, Guanidin, Sulfozyanid und Veratrin betrifft, nicht behandelt. Diese Methodik läßt klar werden, daß man die Kaliumsensibilisation nicht als einfache Addition ähnlicher Effekte ansehen darf.

Man könnte einwenden, daß der hier vorgeschlagene Test zum Nachweis der Kaliumsensibilisierung einer Substanz zugleich recht einfach und grob ist. Es ist wohl richtig, daß er den Muskel einer groben Prüfung unterwirft. Die Einwirkung des Kaliums auf den Muskel darf nicht zu lange dauern, wenn man nicht eine starke Umwandlung des Phosphokreatins, eine Vergrößerung des Sauerstoffverbrauchs und reichliche Bildung von Milchsäure hervorrufen will (HEGENAUER, FENN und COBB[65])! Trotzdem handelt es sich hier um ein interessantes pharmakologisches Hilfsmittel, das übrigens weite Verbreitung gefunden hat und das nicht nur gestattet, interessante Analogien zwischen verschiedenen Substanzen festzustellen, sondern das auch neue Gesichtspunkte zum Studium der *Synergie* und des *Antagonismus der Ionen* ergibt (BACQ[7]). Das Veratrin vergrößert die Reaktion des Muskels nicht nur gegenüber den Alkalikationen Rubidium, Zäsium, Ammonium und Natrium, sondern auch gegenüber dem zweiwertigen Bariumion. Das ist recht überraschend, im Hinblick auf die chemischen Affinitäten, die zwischen Barium und Kalzium bestehen. Die Wirkung des Lithiums und des Wasserstoffions wird durch Veratrin nicht verändert. Ein Kalziumion hebt die Wirkung eines Kaliumions auf, während 3—4 Magnesium- oder Strontiumionen nötig sind, um in gewissen Grenzen die Wirkung eines Kaliumions auf den mit Veratrin behandelten M. rectus aufzuheben. Das Wichtigste ist aber sicherlich, daß die Wirkung des Veratrins nicht dem absoluten Gehalt der Lösung an Kaliumionen proportional ist, sondern vielmehr der Größenordnung des Quotienten $\frac{K + Na}{Ca + Mg}$. Eine gute Kontraktion des mit Veratrin behandelten M. rectus ergibt sich nicht nur durch Vergrößerung des Zählers (Kalium und Natrium), sondern auch durch Verminderung des Nenners, z. B. durch Ausfällung (Oxalat) oder Entionisierung (Zitrat) des Kalziumions. Einen „Veratrineffekt" erhält man ebenfalls entweder durch Kaliumsensibilisation des Muskels (Veratrin) oder durch Ausfällen des Kalziums[106]. Innerhalb des Ionengleichgewichts ist das Kalium besonders aktiv. Als Ion (vor allem intrazellulär, einwertig, sehr wanderungsfähig, von starker entpolarisierender Kraft) ist es bei fast allen Kontraktions- und Exzitationsreaktionen beteiligt. Die Bezeichnung „Kaliumsensibilisation" bleibt auch dann berechtigt, wenn man das Gesamtverhalten eines ziemlich komplexen Ionengleichgewichts mitberücksichtigt. Bei der Bedeutung, die hier dem Wort „Kaliumsensibilisation" beigelegt wird, muß folgendes besonders unterstrichen werden: bei isolierten Muskelfasern, wie in den Versuchen von KUFFLER[91], und beim isolierten M. rectus verändert das Veratrin (oder die anderen Sensibilisatoren) die Reizschwelle kleiner Kaliumdosen nicht bedeutend, während es die mechanische Reaktion stark erhöht.

Es muß besonders unterstrichen werden, daß der Test am M. rectus von Amphibien und der Begriff selbst der Kaliumsensibilisation nicht darauf abzielen, eine Substanz automatisch in eine einheitliche pharmakologische Gruppe einzuordnen, deren Eigenschaften alle identisch oder ähnlich sind. Wir werden Gelegenheit nehmen, auf diese Einschränkung noch mehrfach hinzuweisen. So haben z. B. gewisse Substanzen, die sich beim Test des M. rectus abdominis wie das Veratrin verhalten, bei elektrophysiologischer Analyse gezeigt, daß sie auf ganz verschiedene Weise wirken. Dies ist der Fall bei Koffein, das, obwohl es ein „Kaliumsensibilisator" ist, sich ganz wesentlich vom Veratrin insofern unterscheidet, als es keine rhythmischen elektrischen Phänomene am Muskel nach einem einzigen Reiz hervorrufen kann. Demgegenüber können einige Stoffe eine Art scheinbar deutlicher „Veratrin"-Reaktion ergeben[133, 19, 38], aber ohne daß sie den Muskel für Kalium sensibilisieren. Das ist der Fall bei Glyzerin, Formaldehyd, Azetaldehyd und Paraldehyd[24]. Wie Eyzaguirre und seine Mitarbeiter[36] bemerken, kann das Auftreten von rhythmischen Reaktionen in einem erregbaren Gewebe infolge eines einzigen Reizes unter den verschiedensten Bedingungen stattfinden, und man kann nicht annehmen, daß eine Kaliumsensibilisation unter allen diesen Bedingungen der Grund für die wiederholbaren Phänomene ist. Es ist ebenfalls möglich, daß das Phänomen der Kaliumsensibilisation nicht nur einen einzigen Vorgang bedingt. Wir wissen praktisch nichts über die biochemischen Wirkungen der Kaliumsensibilisatoren, und dieses Nichtwissen kompliziert natürlich die Erklärung der pharmakologischen Wirksamkeit der Substanzen dieser Gruppe. Es wäre beispielsweise falsch zu glauben, daß jede Substanz, die die Kaliumsensibilität verändert, in der gleichen Weise auch alle physiologischen Phänomene beeinflußt, in denen das Kalium eine Rolle spielt. So haben z. B. Harvey[62] und Torda und Wolff[128] nachgewiesen, daß Adrenalin den Froschrectus zu Kalium desensibilisiert, aber es ist auch richtig, daß es bei direkter Einwirkung das Kontraktionsvermögen der Muskelfaser erhöht (Goffart[51]). Andererseits haben wir beobachtet, daß isotonische Glukoselösung, die die Ansprechbarkeit des M. rectus zu Kalium vergrößert (Vanremoortere[129]), immer die mechanische Reaktion des M. sartorius bei direkter elektrischer Reizung vermindert.

Trotz dieser Widersprüche und der vielen Unklarheiten, die eine eindeutige Konzeption dieses Problems erschweren, halten wir es zum mindesten für wahrscheinlich, daß das Phänomen der Kaliumsensibilisation, wenn es recht deutlich auftritt und wenn die Modalitäten richtig verstanden sein werden, in der Lage sein wird, eine ganze Anzahl von pharmakologischen Eigenschaften der durch den Rektustest aufgefundenen Substanzen zu erklären.

In dem folgenden, verständlicherweise unvollständigen Bericht werden wir die bedeutendsten der bekannten Kaliumsensibilisatoren erwähnen und werden, an Hand der heutigen Literatur und so objektiv wie möglich, gewisse pharmakologische und physiologische Gesichtspunkte des Phänomens zum Gegenstand der Betrachtung machen.

Es empfiehlt sich, zunächst kurz zu besprechen, welcher Art die Reaktion des M. rectus auf Kalium und wie beschaffen der mögliche Mechanismus der Sensibilisation in diesem M. rectus ist.

II. Die Reaktion des M. rectus auf Kalium und der Wirkungsmechanismus der Kaliumsensibilisatoren.

Wie bekannt, halten viele Forscher, die die Sensibilität des M. rectus gegenüber verschiedenen Stimulantien untersucht haben, die beobachtete Reaktion des Muskels einfach für eine „Verkürzung". Das ist eine zu „elegante" Art, sich aus der Affäre zu ziehen, wenn man, wie das lange Zeit der Fall war, nicht viel über die Natur dieser Verkürzung weiß.

Es würde uns zu weit vom Gegenstand unseres heutigen Berichtes abführen, wenn wir die sich widersprechenden Meinungen einzeln aufzählen wollten, die über diesen Punkt veröffentlicht worden sind. Es ist bekannt, daß nach der Definition von Gasser[16], die Kontraktur „is characterized by a mechanical change which is not propagated nor attended by a wave-like electrical variation". Nach der heutigen Meinung unseres Institutes, die sich vor allem auf Grund der Untersuchungen von Coppee und Goffart[27] in jüngster Zeit gebildet hat, ist die sogenannte Kaliumkontraktur in Wirklichkeit ein asynchronischer Tetanus, gefolgt von einer wirklichen Kontraktur.

Wenn man annimmt, daß diese Meinung richtig ist, dann können die folgenden Hypothesen die Kaliumsensibilisation des M. rectus erklären.

1. Veränderung der Erregbarkeit.

Die Wirkung einer geringen Dosis Kaliumchlorid auf den M. rectus könnte vergrößert werden nach einer Senkung der Reizschwelle gewisser Fasern, die normalerweise nicht betroffen wären. In der Tat kann man leicht feststellen, daß unwirksame Kaliumdosen nach Einwirkung von Sensibilisatoren auf den M. rectus verkürzend wirken. In der Literatur findet man über die Art der Wirkung der verschiedenen Kaliumsensibilisatoren auf die elektrische Erregbarkeit und auf die Chronaxie viele zerstreute Angaben, die sich manchmal widersprechen[52]. Es ist wichtig, die Frage der Konzentration zu beachten. Wenn wir uns hier auf das Veratrin beschränken, so können wir feststellen, daß verschiedene Forscher zugeben, daß es die Reizschwelle des Muskels vermindert[95, 86, 110]. Die Chronaxie ist bei Rana esculenta weit weniger beeinflußt als bei der

Rana temporaria[96], und es muß hervorgehoben werden, daß auch die Reaktion dieser beiden Froscharten auf Kaliumsensibilisatoren gleiche Artunterschiede aufweist[6].

Wenn man im ganzen annimmt, daß die Kaliumsensibilisatoren die Erregbarkeit der Muskelfasern vergrößern, so wird man ebenfalls verstehen können, daß diese Substanzen in Anwesenheit einer kleinen Menge von Kaliumchlorid eine erhöhte Ansprechbarkeit der Muskelfasern und eine stärkere mechanische Reaktion veranlassen.

Die Auswirkung der isotonischen Glukoselösung soll besonders betrachtet werden. Wir haben gezeigt[129], daß beim Eintauchen des M. rectus von Rana pipiens in eine isotonische Glukoselösung sehr bald eine deutliche Vergrößerung der Reaktion gegenüber Kaliumchlorid eintritt. Fenn[40] hat im Jahre 1931 nachgewiesen, daß isotonische Zuckerlösung in der ersten halben Stunde Elektronegativität des Muskels hervorruft. Diese beiden Tatsachen werden auch durch die Arbeiten von Höber[106] erläutert, der festgestellt hat, daß die durch Kaliumchlorid hervorgerufene Depolarisation bei vorhergehender Behandlung mit Dextroselösung erheblich verstärkt wird. Man kann doch unmöglich annehmen, daß isotonische Glukoselösung ganz allgemein die Erregbarkeit der Muskeln verstärkt, denn während die Reaktion auf Kalium verstärkt wird, wird sie für Azetylcholin erheblich vermindert. Es ist seit langem bekannt, daß der mit isotonischer Glukoselösung behandelte Muskel unerregbar wird („sugar non-irritability").

Auf Grund neuer Erfahrungen, die bisher nicht veröffentlicht wurden, fragen wir uns, ob die isotonische Glukoselösung wirklich eine Hypersensibilität gegenüber Kalium hervorruft. Es ist möglich, daß das Kalium in Wirklichkeit die „Zuckerkontraktur" verstärkt, die hauptsächlich auf Mangel an Natrium beruht*.

2. Verkürzung der refraktären Periode.

Eine andere Ursache der „Kaliumsensibilisation" könnte die Abkürzung der refraktären Periode sein, was eine Erhöhung der *Frequenz* des „Kaliumtetanus" erlauben würde. In diesem Falle müßte das Chinin, das die refraktäre Periode verlängert, eine Desensibilisierung gegenüber dem Kaliumion verursachen. Wir haben festgestellt, daß das sehr wohl für Chinidin zutrifft[131]. Chinidin ruft eine schnelle Verminderung der Ansprechbarkeit für Azetylcholin hervor, verringert die Reaktion auf Kalium etwas langsamer und führt schließlich zur Verkürzung des Muskels.

Es sei auch darauf hingewiesen, daß nach Harvey[61] Chinin die Veratrinwirkung auf den Muskel aufhebt oder stark einschränkt, und

* Die interessante Arbeit von A. Fleckenstein und H. Hertel (Pflügers Archiv, **250**, 577, 1948) war uns leider zur Zeit dieses Berichtes unbekannt.

zwar bei Dosen, die die Empfindlichkeit für Kalium nicht vermindern. Man hat deswegen angenommen, daß Chinidin elektiv der durch das Veratrin hervorgerufenen Sensibilisation entgegenwirken kann (Krayer und Acheson[87]). Wir teilen diese Ansicht nicht, denn wir haben festgestellt, daß während der Zeit, wenn die Kaliumempfindlichkeit des M. rectus vermindert ist oder unter Chinidineinfluß verschwindet, die durch Sulfozyanid hervorgerufene Sensibilisation nicht beeinflußt. wird[131].

3. Synchronisation.

Eine bessere Synchronisation des Muskeltetanus würde ohne Zweifel eine deutlichere Verkürzung des Muskels zur Folge haben. Der asynchrone Charakter des durch KCl hervorgerufenen Muskeltetanus erklärt völlig die Tatsache, daß die durch Kaliumchlorid erzeugte Tonisierung im Froschmuskel nur 20—35% einer synchronen tetanischen, durch elektrischen Reiz erzeugten Tonisierung entspricht[115, 17]. Eine Vermehrung der Reizbarkeit, die den Übergang der Reizung von einer Muskelfaser auf die andere gestatten würde, könnte die Synchronisation im Falle einer Reizung durch Kaliumchlorid in Anwesenheit von Veratrin erleichtern[66].

4. Veränderung der Permeabilität.

Darf man annehmen, daß beim Phänomen der Ionensensibilisation eine Permeabilitätssteigerung des Muskels eine Rolle spielt?

Das Adrenalin desensibilisiert den Muskel gegenüber den Kaliumionen (Harvey[62], Torda und Wolff[128], und vermindert auch die Permeabilität der Muskelmembran gegenüber diesem Ion (Goffart und Perry[54]).

Die Arbeiten von Fleckenstein und Hardt[12, 60], die mit den Untersuchungen von Halpern[59] übereinstimmen und die Aufklärung der Wirkungsweise der synthetischen Antihistamine zum Ziele haben, führten zu Resultaten, die von Lecomte und von uns[98] durch Untersuchungen, die unabhängig davon durchgeführt wurden, vollauf bestätigt worden sind. Die Antihistamine, die Lokalanästhetika und die Kalziumionen, die die Eigenschaft haben, die Permeabilität von Membranen zu vermindern, hemmen bzw. verhindern die Kaliumeffekte auf den normalen oder durch Sulfozyanid oder Veratrin sensibilisierten Muskel. Andererseits ist das Chinidin, das die Kaliumsensibilität des M. rectus verhindert, auch ein Lokalanästhetikum.

Wir nehmen also an, daß dieses Phänomen der Kaliumdesensibilisierung eng mit der Verminderung der Zellpermeabilität verbunden ist. Kann man daraus folgern, daß Vergrößerung der Kaliumsensibilität, so wie wir sie beschrieben haben, immer und in allen Fällen mit einem inversen Prozeß verbunden ist, das heißt mit einem Anwachsen der

Permeabilität? Obwohl wir annehmen, daß diese Hypothese einen hohen Grad an Wahrscheinlichkeit haben kann, so findet man doch in der Literatur einige Fälle, die sich nur schwer mit dieser Theorie vereinbaren lassen. Mosera[105] hat den Einfluß von Veratrin, Sulfozyanid und Guanidin auf die Imbibition und die Permeabilität des Froschmuskels studiert. Die Dosen und die Einwirkungszeiten, die er anwenden mußte, um meßbare Effekte zu erzielen, scheinen zu zeigen, daß die Eigenschaft gewisser Kaliumsensibilisatoren, die Permeabilität der Zellen zu erhöhen, wenig mit ihrer Sensibilisierungseigenschaft zu tun hat.

Untersuchungen von Kuffler[92] zeigen, wie verwickelt das Problem ist: Behandlung einer isolierten Muskelfaser mit Novocain 0,1—0,5% (welches eine „permeabilitätseinschränkende Grundwirkung", einen „Dichtungs- und Stabilisierungseffekt" hätte) verändert die Reizschwelle bei Gleichstrom nicht, ebensowenig wie die Reizschwelle bei Kaliumchlorid. Allerdings ergeben die Kaliumchloriddosen, die gewöhnlich ausgedehnte Kontraktionen hervorrufen, nur mehr eine Kontraktur am Anwendungsort. Das Ruhepotential wurde bei diesen Versuchen durch das Novocain nicht wesentlich verändert, und es ist nicht möglich gewesen, festzustellen, welche Veränderungen in den Eigenschaften der Membran das Leitvermögen verhindern.

Man darf vielleicht hier erwähnen, daß die Eigenart der Kaliumsensibilisation von gewissen strikten Bedingungen bezüglich Konzentration und Wirkungsdauer abhängt. Eine zu starke Konzentration oder eine zu lange Wirkungsdauer könnten leicht eine Inversion des Effektes und eine Kaliumentsensibilisation zur Folge haben. Das könnte vielleicht viele der Widersprüche erklären.

Nach unserer Ansicht ist es noch verfrüht, sich eine feste Meinung zu bilden: Diese Darlegungen, wie unvollständig sie auch immer sein mögen, haben gezeigt, daß der innere Mechanismus der „Kaliumsensibilisation" noch nicht geklärt ist, und die Verschiedenheiten der möglichen Interpretationen läßt schon vermuten, daß die Gruppe der Kaliumsensibilisatoren nicht einheitlich ist.

III. Die Gruppe der Kaliumsensibilisatoren.

Zahlreiche Kaliumsensibilisatoren sind entweder systematisch erforscht worden oder durch Zufall bekannt geworden. Es gibt ihrer wirklich eine ganze Reihe (Tab. 1). Es ist unmöglich, irgendeine Beziehung zwischen der chemischen Struktur und der Eigenschaft der Kaliumsensibilisatoren zu finden. Die stärksten Sensibilisatoren sind Veratrin, Sulfozyanid, Methylxanthine, Histamin, Chlor- und Brompikrin, oxydiertes Colchicin und Thiosulfat. Das Sulfozyanid wirkt sehr rasch (in 1—2 min), und der Effekt kann durch wiederholtes Auswaschen

Tabelle 1. *Kaliumsensibilisatoren*.*

Substanzen	Konzentration (mg/100 cm³)	Effekt
Veratrin	0,01—0,4	+ + + +
Akonitin	0,1 —10	+ +
Delphinin	10	+ +
Guanidin	10 —20	+ +
Methylguanidin	0,02—20	+ / + +
Chlor- und Brompikrin	1	+ + + +
Oxydiertes Colchicin	10 —50	+ + +
Na-Sulfozyanid	10 —100	+ + + +
Na-Thiosulfat	1000	+ + +
Spartein	10	+ +
Arecolin	10	+
Atropin	5 —20	+
Na-Perchlorat	10	+ +
Na-Persulfat	100	+
Na-Perborat	10	+
Na-Permanganat	1 —4	+
Adenylsäure	0,2 —200	-
Adenosin	0,2 —20	+
Adenin	0,2 —20	+
Guanin	0,02—20	+ -
Xanthin	0,02—20	+ / + +
Uracil	0,02—200	+ / + +
Thiouracil	0,02—200	+ / + +
Harnsäure	0,02—200	+ / + +
Harnstoff	0,02—20	+
Thioharnstoff	0,02—20	-
Koffein	0,02—20	+ + +
Theobromin	0,02—25	+ -
Theophyllin	0,02—50	+ + +
Pyridin	0,02—20	+
2-methyl-5-ethoxymethyl-6-aminopyrimidin	0,02—20	-
4-methyl-5-hydroxyethylthiazol	0,02—20	+
Pyrrol	0,02—20	+ / + +
Histamin	1 —2	+ + + +
Erythrin		
Mistelextrakt	0,01—0,02	+ +
D. D. T.		+
Hexachlorzyklohexan		+ -
Zuckerlösung	isotonisch	+ + + +

sehr leicht reversibel gemacht werden: wir bevorzugten Sulfozyanid sehr oft bei unseren Versuchen.

Was die reinen Alkaloide der Veratringruppe angeht, so hat Goutier[58] festgestellt, daß die veresterten Alkaloide (Veratridin, Proto-

* Literatur in: Goffart, M., und Z. M. Bacq: Erg. Physiol. (erscheint demnächst).

veratrin und Cevadin) giftiger sind und deutlichere sensibilisierende Eigenschaften haben, als die nicht veresterten Alkaloide (Jervin, Rubijervin, Cevin und Germin).

Es sind nicht immer pharmakologisch wirksame Substanzen nötig, um für Kalium zu sensibilisieren. Wie schon früher erwähnt wurde, genügt es, den M. rectus in eine isotonische Glukoselösung einzutauchen, um nach weniger als einer Minute des Kontaktes eine Verstärkung der Reaktion zum Kalium zu erhalten. Die Intensität dieser Verstärkung kann mit der Wirkung der stärksten Sensibilisatoren verglichen werden[129]. Das Phänomen scheint von der verwendeten Amphibienart abzuhängen: Während es eindeutig bei *Rana pipiens* (amerikanischer Frosch) auftritt, haben wir es nur mit Schwierigkeiten bei den europäischen Arten *Rana esculenta* und *Rana temporaria* hervorrufen können. Dagegen kann man es wieder leicht bei europäischen Kröten auslösen[132].

IV. Einige physiologische und pharmakologische Gesichtspunkte der Kaliumsensibilisation.

Für eine Analyse der physiologischen und pharmakologischen Auswirkungen der wichtigsten Kaliumsensibilisatoren erscheint zunächst das Gemeinsame dieser Phänomene wesentlich: Veratrin und die analogen Substanzen verstärken nicht nur die Kaliumwirkung auf die Froschmuskeln, sondern auch auf die aller Wirbellosen mit Ausnahme der Echinodermen und der Zölenteraten[5, 50] und auf die glatten und quergestreiften Muskeln der Säugetiere[6].

1. Wirkung der Kurarisation und der Atropinisation auf Kaliumsensibilisation.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß Kurarisation den charakteristischen Effekt von Veratrin auf den quergestreiften Muskel qualitativ nicht verhindert. Das gleiche gilt für Kaliumhypersensibilität, und ich habe zu Beginn dieser Darlegungen daran erinnert, daß man nach Durchströmung von zwei Muskelpräparaten (nach der Läwen-Trendelenburgschen Methode) nacheinander einen Humoraltransport der Veratrinkontraktur auf ein kurarisiertes Präparat feststellen kann[124]. Das zeigt, daß das möglicherweise durch die Kaliumionen freigemachte Azetylcholin bei dem Vorgang der Kaliumsensibilisation keine Rolle spielt. Man hat auch nachweisen können, daß die Atropinisation des Herzens den sensibilisierenden Effekt von Veratrin, Sulfozyanid oder von Koffein nicht verhindert. Durch quantitative Untersuchungen sind wir zu der Folgerung gelangt, daß Kurare die Reaktion des normalen oder sensibilisierten M. rectus auf Kalium leicht vermindert[130], daß aber die Größenordnung bei der Sensibilisation die gleiche bleibt. Die Er-

gebnisse sind genau die gleichen wie bei der Verwendung von Chinidin[131]: Die Kaliumempfindlichkeit des Muskels ist reduziert, aber der Vorgang der Sensibilisation als solcher ist gar nicht beeinflußt. Es sei noch einmal betont, daß nach unserem derzeitigen Wissen, zur Zeit kein pharmakologisches Mittel bekannt ist, das die Kaliumsensibilisation zu ändern vermöchte, ohne die ursprüngliche Kaliumempfindlichkeit des M. rectus ebenfalls proportional herabzusetzen.

2. Veränderung des Azetylcholineffektes auf den M. rectus.

Entgegen einer früher ausgesprochenen Ansicht von Bacq und Brown[8] reagiert der isolierte Froschmuskel, nach Einwirkung von Veratrin stärker und vor allem schneller auf Azetylcholin (Bacq[6]). Diese leichte Azetylcholinsensibilisation durch Veratrin scheint der „Kaliumkomponente" der Wirkung des Azetylcholins zuzuschreiben zu sein. Es ist wohl bekannt, daß das Azetylcholin das Kalium des Muskels frei macht, Hardt und Fleckenstein[60] haben es kürzlich wieder bestätigt. Andererseits ähnelt die Azetylcholinreaktion des isolierten Muskels nach Behandlung mit Veratrin einer Kaliumreaktion: schnelles Eintreten, weniger dauerhafte Verkürzung[6]. Wir glauben, daß wir diese Annahme hinreichend unterbaut haben durch den Nachweis, daß eine vollständige Eserinisation des M. rectus die Potenzierung des Azetylcholineffektes durch Sulfozyanid quantitativ nicht verändert[130]. Dies beweist, daß die Empfindlichkeitssteigerung für Azetylcholin, die durch das Sulfozyanid hervorgerufen wird, nicht von einer Hemmung der Cholinesterase abhängt, ebensowenig wie von einem der verschiedenen Vorgänge, die am Eserineffekt beteiligt sind. Da andererseits das Sulfozyanid die Verkürzung des M. rectus nicht verstärkt, wenn die Mitwirkung von Kaliumionen ausgeschlossen ist (Chinidin-Kontraktur z. B.), so ist es logisch, anzunehmen, daß die Azetylcholinsensibilisation wohl eine direkte Folge der Kaliumsensibilisation ist.

Diese Azetylcholinsensibilisation, die man auch am Herzen feststellen kann, besteht für die überwiegende Mehrzahl der Kaliumsensibilisatoren und kann auf die gleiche Weise erklärt werden. Uns sind nur zwei auffallende Ausnahmen bekannt: 1. nach Coppee[26] unterbindet das Spartein, ein Kaliumsensibilisator, die Azetylcholinreaktion, 2. haben wir selbst festgestellt, daß das Eintauchen des M. rectus in isotonische Glukoselösung die gleiche Nichtübereinstimmung zwischen der Kalium- und der Azetylcholinsensibilisation hervorruft[129]

Es ist möglich, daß eine genaue Analyse der Sparteinwirkung interessante Schlußfolgerungen zu ziehen erlaubt über die Empfindlichkeit der Muskeln gegenüber einem direkten Reiz und vor allen Dingen über den Vorgang der Sensibilisation und der Desensibilisation.

3. Veränderungen der Herzeffekte des Kaliums und der Erregung des N. vagus.

Veratrin, Sulfozyanid und Akonitin sensibilisieren das Herz von Frosch und Schildkröte gegenüber der hemmenden Wirkung der Kaliumionen[32]. Experimente von Goutier[56] zeigen, daß Koffein und Methylxanthine die gleiche Wirkung haben. Die Ionensensibilisation durch Akonitin wurde durch Amann und Jarisch[2] am Hund bestätigt.

Hueber[76] hat nachgewiesen, daß bei Anwendung von Akonitindosen, die an sich wirkungslos sind, die Zugabe von einem kleinen Überschuß an Kalium oder die Verminderung des Kalziums Arrhythmien verursachen, wie sonst nur erheblich größere Dosen von Akonitin selbst veranlassen würden.

Die ersten Beobachtungen der Sensibilisation des Herzens gegenüber der vagalen Reizung durch Veratrin machten schon v. Bezold und Hirt[18] im Jahre 1867.

Es ist allgemein bekannt, daß vagale Reizung des Herzvorhofs einer Schildkröte nicht nur Azetylcholin freimacht, sondern auch Kaliumionen (Howell und Duke[75]; Lehnhartz[99]). Schwache Dosen Veratrin, Sulfozyanid und Methylxanthine vergrößern merklich die hemmende Wirkung der Vagusreize auf die Vorhöfe der Schildkröte; dieser Vorgang ist reversibel. Eine Behandlung des Frosch- oder Krötenherzens mit Natriumsulfozyanid (0,1%) verstärkt die Empfindlichkeit des Herzens gegenüber der Vagusaktion. Veratrin hat die gleiche Wirkung auf das Hundeherz[52]. Wir haben ebenfalls eine Vergrößerung des negativen chronotropen Effektes der Reizung des rechten Vagus des Hundes nach intravenöser Injektion von Natriumsulfozyanid festgestellt[132].

Diese Tatsachen ergeben einen interessanten Beitrag zur Hypothese einer Korrelation zwischen der Nervwirkung und den Veränderungen im Ionengleichgewicht und im Verhalten der Membranen der Herzmuskelfasern.

4. Bezold-Jarisch-Effekt.

Ich fühle mich nicht ganz wohl dabei, wenn ich hier den Bezold-Jarisch-Effekt erwähne: die Mehrzahl der Arbeiten, die dieser Frage gewidmet sind, sind in deutscher Sprache veröffentlicht worden, und die Mehrzahl der Teilnehmer dieses Kongresses kennt wahrscheinlich dieses Phänomen viel besser als ich. Seit 1939 haben Jarisch und seine Mitarbeiter Richter und Amann es eingehend studiert. Eichholtz, Fleckenstein und andere haben das gleiche getan. Heute noch wird Prof. Dr. Zipf einen Vortrag über diese Frage halten.

Der Bezold-Jarisch-Effekt ist der reflektorische Abfall des arteriellen Blutdrucks beim Säugetier nach intravenöser Einspritzung von Veratrin. Seit 1867, als Bezold und Hirt[18] beobachteten, daß die durch Veratrin

hervorgerufene Blutdrucksenkung einen äußerst komplizierten Mechanismus hat, ist dieses Problem in den letzten Jahrzehnten durch zahlreiche Arbeiten weitgehend gelöst worden. Die Tatsachen sind die folgenden: Wenn man einer chloralisierten Katze, deren Vagusnerven intakt sind, intravenös 0,1—0,2 mg Veratrin pro Kilogramm einspritzt, so sieht man, daß nach wenigen Sekunden der Karotisdruck beispielsweise von 140 auf 60 mm Hg sinkt, während die Herzfrequenz von 250 auf 120 Pulsschläge in der Minute zurückgeht. Atropin hebt die Bradykardie auf, aber die Blutdrucksenkung besteht weiter. Wenn man die beiden Vagusnerven abkühlt, so steigt der Druck schnell auf 150 mm Hg an; sobald man die Nerven sich wieder erwärmen läßt, geht der Druck wieder auf 60 zurück. Während der Veratrineinwirkung scheinen die afferenten Reize im N. vagus zum größeren Teil aus den Herzventrikeln herzurühren, wahrscheinlich aus rezeptiven Zellen, ähnlich den von Pannier[108] beschriebenen.

Wir haben wenig persönliche Erfahrung in bezug auf den Bezold-Jarisch-Effekt[98]. Einige unserer Ergebnisse werde ich nach dem Bericht von Prof. Dr. Zipf bekanntgeben. Mit Veratrin, das wir benutzt haben (Veratrinum „purum" Sandoz), haben wir in ungefähr 20% der Fälle Tachyphylaxie beobachtet. Es muß erwähnt werden, daß Veratridin keine Tachyphylaxie verursacht[104], während sie mit Protoveratrin sehr deutlich auftritt[89]. Es wäre zweifellos interessant, chemisch reine Alakaloide für diese Versuche zu verwenden[87].

Im Rahmen dieses Vortrages können wir nur das wachsende Interesse erwähnen, das man der Hemmung des Bezold-Jarisch-Effektes beimißt. Es ist besonders interessant, bezüglich der Frage der Kaliumsensibilisatoren daran zu erinnern, daß Amann und Jarisch[2] beim Bezold-Jarisch-Effekt Beobachtungen gemacht haben, die den am Froschrectus gemachten sehr ähnlich sind: Einspritzung von Kalium-, Rubidium- und Bariumsalzen, Entionisierung des Kalziumions rufen den Bezold-Jarisch-Effekt bei einer leicht veratrinisierten Katze hervor: Kalzium hebt diese Wirkung auf.

Erzeugen alle Kaliumsensibilisatoren den Bezold Jarisch-Effekt? Mit Histamin[3], Akonitin und einigen anderen Substanzen ist das Experiment positiv, während der starke Kaliumsensibilisator Sulfozyanid diesen Effekt nicht hervorruft[2]. Man muß annehmen, daß die sensiblen Nervenzellen des Myokards, die der Ausgangspunkt des Bezold-Jarisch-Effektes sind, durch Veratrin, aber nicht durch Sulfozyanid kaliumsensibilisiert sind: die gleichen Unterschiede findet man auch an der neuro-muskulären Schaltstelle des quergestreiften Muskels.

Wenn aber auch das Sulfozyanid die Reaktion der sensiblen Elemente des Reflexbogens nicht erhöht, so scheint es doch, daß es die Vaguseffekte verstärkt und dadurch beim Hund eine Reduktion des Herz-

minutenvolumens mit Verminderung der Frequenz, aber ohne Blutdrucksenkung erzeugt. Kalzium wirkt sehr deutlich der durch Veratrin und Sulfozyanid hervorgerufenen Verminderung des Herzminutenvolumens entgegen[10].

Diese Forschungen werfen ein neues Licht auf den Gebrauch von Sulfozyanid bei Behandlung der Hypertension[109, 134, 15], wenn es beim Patienten gelingt, den Blutdruck zu senken, dann geschieht das auf Kosten der Herzfunktion. Das klinische Experiment hat die Indikationen des Sulfozyanids[121], das selbst bei sogenannten therapeutischen Dosen leicht Vergiftungserscheinungen hervorruft, wie z. B.: Schwäche, Übelkeit, Erbrechen, Dermatitis, Halluzinationen, Aphasie, Koma und Tod, schon erheblich eingeschränkt[44]. Es ist interessant zu beobachten, daß der menschliche Organismus bei chronischer Sulfozyanidvergiftung durch Freimachung von Kalzium aus den Knochen reagieren kann: Hinchey, Hines und Ghormley[69] berichten von Osteoporose in 2% der Fälle, in denen arterielle Hypertension mit Sulfozyanid behandelt wurde, 3—6 Monate nach Beginn der Behandlung. Heilung der Osteoporose trat regelmäßig nach Abbruch der Behandlung ein.

In Verbindung mit dem Bezold-Jarisch-Effekt muß auch daran erinnert werden, daß es verschiedenen Forschern gelungen ist ([82, 63, 89, 35] usw.) einen Hypotensor- und Kardiomoderator-„Reflex" — vom Karotissinus ausgehend — durch Veratrin- oder Kaliumchloridinjektion in den Sinus zu erzielen.

Sulfozyanid[25] wirkt auf die sensiblen Enden des Plexus sinocaroticus des Hundes und des Herzvagus wie auf die Verbindungsstelle Nerv-Muskel: seine Wirkung weicht hier wiederum von der des Veratrins ab.

5. Einwirkung der Kaliumsensibilisatoren auf den Nerv, den quergestreiften Muskel und die neuro-muskuläre Schaltstelle.

Das Studium der Wirkung der Kaliumsensibilisatoren auf Nerv, quergestreiften Muskel und die neuro-muskuläre Schaltstelle ist der wichtigste Teil des Problems, mit dem wir uns heute beschäftigen. Wenn wir alle die zahlreichen und bedeutenden Arbeiten, die allein im Laufe der letzten Jahre hierüber veröffentlicht worden sind, würdigen wollten, dann würde aus diesem Bericht eine lange Aufzählung von Tatsachen und Meinungen, die weder angenehm zu lesen noch anzuhören wäre. Andererseits dürfte es kaum möglich sein, alle diese vielfältigen und sich widersprechenden Tatsachen auf einen Nenner zu bringen; das ergäbe ein sehr gewagtes Gedankengebäude, dessen Fundament sehr labil wäre! Es scheint allerdings, daß jeder objektive Denkende unter dieser Masse von Angaben zwei bestimmte Tendenzen erkennen kann, die sich manchmal zuwiderlaufen: es sind dies die Tendenzen, auf die wir schon verschiedentlich im Laufe dieses Berichtes hingewiesen haben. Einerseits ist die Kalium-

sensibilisation eine wichtige Tatsache, mit deren Hilfe man eine ganze Anzahl der pharmakologischen Eigenschaften dieser Substanzen erklären kann. Andererseits kann der Begriff allein der Kaliumsensibilisation nicht alles erklären: die Stoffe dieser Gruppe wirken nicht alle gleichartig, was zur Folge hat, daß man nicht immer die erzielten Effekte mit den durch Verdichtung der Konzentration des Kaliums hervorgerufenen auf eine Stufe stellen kann. Man kann mindestens 3 Gründe für diese Verschiedenheiten anführen: 1. Die Intensität der Sensibilisierung ist bei jeder Substanz verschieden, 2. die Kaliumsensibilisatoren wirken nicht auf ausnahmslos alle biologischen Strukturen, 3. bei einigen von ihnen besteht ein gewisser Antagonismus zwischen den Effekten der Sensibilisation und den Effekten anderer Eigenschaften der Substanz.

Nachdem wir so die Tatsache unterstrichen haben, daß wir keineswegs geneigt sind, eine einseitige Meinung, die leicht zu widerlegen wäre, zu der unsrigen zu machen, fühlen wir uns berechtigt, eine drastische und eigenmächtige Auswahl zu treffen aus der Masse der veröffentlichten Fälle: die wenigen Beispiele, die wir auswählen, sollen nur das Problem erläutern, nicht eine vollständige objektive Theorie aufstellen.

a) Die elektrophysiologische Untersuchung der Muskelkontraktion zeigt, daß *Veratrin* nicht nur auf den Nerv und auf die Muskelfaser wirkt, sondern auch auf die motorischen Endplatten: Veratrin verstärkt die Kontraktion und wirkt dekurarisierend. Die Reaktion der motorischen Endplatte wird wiederholbar. Diese Eigenschaft besitzen auch die reinen Alkaloide: Veratridin, Cevadin, Cevin[26, 58].

Natriumsulfozyanid wirkt nicht dekurarisierend und wirkt nicht auf die motorischen Endplatten[26]. Seine Angriffspunkte sind die Nerven- und besonders die Muskelfasern selbst. Die potenzierende Wirkung des Sulfozyanids bei direkter Reizung ist allgemein bekannt. Bei entsprechenden Dosen werden die Reaktionen des Nerven und des Muskels wiederholbar und die einfache Kontraktion nach einem maximalen Reiz wird ein kurzer Tetanus.

Nach Boehm[20] soll die „Veratrin"-Aktion des *Akonitins* durch Kurare aufgehoben werden und ihren Ursprung ausschließlich im Nerv haben.

Der Veratrineffekt des *Oxycolchicins* soll auf einer direkten Wirkung auf die Muskelfaser beruhen[79].

Das *Guanidin* wirkt dekurarisierend und verstärkt die mechanische Kontraktion. Nach einigen Autoren[45, 11, 37] soll es auf die motorische Endplatte wirken. Coppee[26] hat nachgewiesen, daß das Guanidin das Potential der motorischen Endplatte selbst nicht wiederholbar macht und nimmt an, daß die Veränderung der Reaktion der Muskelfasern der Ursprung der beobachteten Phänomene ist, wie bei Sulfozyanid. Die Dekurarisation nach Guanidineinwirkung soll vor allen Dingen auf

eine Erhöhung der langsamen Welle der motorischen Endplatte, neben der vergrößerten Erregbarkeit der Muskeln zurückzuführen sein.

Wir wollen auch erwähnen, daß bei unseren Experimenten *isotonische Glukoselösung* die auf einen maximalen direkten Reiz folgende Kontraktion des M. sartorius nicht verstärkt.

Schließlich ruft *Koffein*, das auf den isolierten M. rectus genau so wirkt wie Veratrin, keine wiederholte Reaktion weder beim Nerv, noch bei der motorischen Endplatte noch beim Muskel hervor. Koffein wirkt dekurarisierend. Goffart und Goutier[53] haben am N. ischiadicus-M. sartorius Präparat beim Frosch und am N. phrenicus-Diaphragma der Ratte nachgewiesen, daß Methylxanthine einerseits die Kontraktion um so mehr verstärkten, je mehr Kalium in der Ringerlösung ist (und daß sie für sensibilisierend gegenüber „diesem" Kalium gelten), daß sie andererseits eine potenzierende Wirkung auf ein Präparat in Ringer- oder Tyrodelösung ohne Kalium ausüben. Wenn man dann noch die Verstärkung der Maximal-Kontraktion des Zwerchfells der Ratte durch Koffein, Theobromin und Theophyllin in Tyrodelösung ohne Kalium mit 0,02% $CaCl_2$ und in Tyrodelösung ohne Kalium mit 0,04% $CaCl_2$ vergleicht, so stellt man fest, daß ein Überschuß an Kalzium die Wirkung der Methylxanthine nicht unterbindet.

Koffein depolarisiert den Froschmuskel: diese Wirkung tritt elektiv an der motorischen Endplatte auf und wird durch Kurare erheblich vermindert, während die depolarisierende Wirkung des Kaliums gleichmäßig über die ganze Muskelfaser verteilt ist und durch Kurare wenig beeinflußt wird (Kuffler[90]).

Diese einfache Aufzählung zeigt klar die Unterschiede, die zwischen den wichtigsten Kaliumsensibilisatoren bestehen. Man erklärt im allgemeinen die Verstärkung der Kontraktion durch die Sensibilisierung; die Unterschiede bezüglich der dekurarisierenden Wirkung können vielleicht durch einen verschiedenen Angriffspunkt der Sensibilisatoren erklärt werden. Im Falle der Methylxanthine dagegen kann man bestätigen, daß ihre Eigenschaft, für Kalium zu sensibilisieren, sich gut mit ihrer Wirkung auf das Herz und auf die Vaguseffekte vereinbaren läßt, aber ihre Wirkung auf den quergestreiften Muskel nicht erklärt.

b) Es scheint, daß das Studium der Wirkung der Kaliumsensibilisatoren auf den Nerv gewöhnlich gestattet, eine Beziehung zu finden zwischen ihren Eigenschaften der Sensibilisation und anderen Phänomenen, wie z. B. der Adaptation, dem „recruitment", der Erniedrigung des Leitvermögens, dem Auftreten wiederholbarer und autorrhythmischer Reaktionen, den Veränderungen des Demarkationspotentials usw.[52]. Was letzteres anbelangt, so wäre doch die Wirkung des Sulfozyanids wiederum von der des Veratrins oder anderer Sensibilisatoren, z. B. des Guadinins, zu unterscheiden[41, 135, 71].

Die Wirkung der Kaliumsensibilisatoren und des Kaliums selbst auf das negative Nachpotential scheint unklar zu sein. Veratrin verstärkt es erheblich, Kalium vermindert es, während Kalzium es vergrößert[87]. Und doch ist nach einem zu Muskeltetanus führendem Reiz, wobei Kalium frei wird, das negative Nachpotential, das auf einen einzigen Reiz folgt, erheblich verstärkt[47], so wie das nach Einwirkung von Veratrin, Natriumsulfocyanid, Natriumthiosulfat und Chlorpikrin der Fall ist: Guanidin dagegen vermindert das negative Nachpotential[26].

Shanes[122] hat an dem Riesen-Axon des Kalmars beobachtet, daß die Verminderung des Kaliums im Meerwasser das negative Potential vergrößert, während Vermehrung von Kalzium es verringert. Veratrin ($1 \cdot 10^{-6}$) vergrößert das negative Nachpotential um 50% und verlängert dessen Dauer. Bei dem Versuchsobjekt, das mit Veratrin behandelt worden war, verstärkt eine Verminderung des Kaliums das negative Nachpotential und ein Überschuß an Kalzium wirkt in der gleichen Weise. Kalzium wirkt also entgegengesetzt je nachdem, ob der Nerv veratrinisiert ist oder nicht. Shanes nimmt an, daß das negative Nachpotential auf einer Depolarisation beruht durch einen Überschuß an Kalium, das beim Durchgang des Stroms freigeworden ist. Veratrin würde also wie ein Überschuß an Kalium an der Oberfläche der Nervenfaser wirken; seine Wirkung ist der einer Kalziumverminderung auf den normalen Nerv ähnlich. Die Verminderung der Kaliumionen an der Oberfläche soll das Verhältnis zwischen dem Kalium in der Muskelfaser und dem an der Zelloberfläche erhöhen und dadurch das negative Nachpotential des normalen und des veratrinierten Nervs vergrößern.

Obwohl die Bedingungen kaum miteinander verglichen werden können, kann man vielleicht eine ähnliche Erklärung für die folgende Beobachtung finden[132], wir haben festgestellt, daß beim Kaninchenherzen, das nach der Methode von Langendorff durchspült wird, das Natriumsulfozyanid die T-Zacke des Elektrokardiogramms verstärkt, während eine Beigabe von Kalium zu der Flüssigkeit sie verringert.

Was das Zentralnervensystem anbetrifft, macht eine intrakarotidiale Injektion von Veratrin unterschwellige Kaliumdosen wirksam auf das Herz-Vagus-Zentrum[30]. Eine Vermehrung der Kaliumionen im Liquor cerebrospinalis ruft einen Blutdruckanstieg hervor. Dieser tritt schneller und stärker ein, wenn man Veratrin ($1 \cdot 10^{-6}$) mit Kalium zusammenbringt[16].

Das Ergebnis der Untersuchung des Sauerstoffverbrauchs des Nervs läßt die Theorie von den Kaliumsensibilisatoren fehlerhaft erscheinen. Veratrin und Sulfozyanid vergrößern den Sauerstoffverbrauch[120, 23], während geringe Veränderungen des Kaliumgehaltes ohne Wirkung bleiben und hohe Dosen den Sauerstoffverbrauch hemmen. Bei diesen Untersuchungen wirken Kalium und Kalzium nicht antagonistisch[23].

Ebensowenig stimmen die Resultate der Untersuchungen über den Sauerstoffverbrauch des Muskels in ihren Ergebnissen überein.

Wir beenden diesen Abschnitt mit einer weiteren einschränkenden Feststellung: die Experimente von Huidobro und Poblete[78] zeigen ein Nichtübereinstimmen der Wirkung des Kaliums und des Veratrins auf den entnervten Säugetiermuskel: die Kaliumwirkung ist vermindert und die von Veratrin vergrößert.

c) *Myotonie.* Es gibt ein pathologisches Phänomen, das zahlreiche Analogien mit der Wirkung des Veratrins auf den Muskel aufweist: das ist die Myotonie. Entgegen widersprechenden Ansichten[34] gibt es eine ganze Reihe von Tatsachen, die beweisen, daß der Sitz der anormalen Erscheinungen gerade in der Muskelfaser selbst sich befindet[116, 85, 22, 94], ganz gleich, ob es sich um Myotonie beim Menschen oder um die verwandte Myotonie bei der Ziege handelt.

Der myotone Muskel reagiert mit einem Tetanus auf einen einzigen Reiz. Bei veratrinisierten oder myotonen Muskeln beobachtet man ebenfalls eine erhebliche Hypersensibilität für Kalium und eine verstärkte Reaktion auf Azetylcholin und auf mechanischen Reiz. Eine Gabe von 2—4 Natrium-dichlorphenoxyazetat ruft bei der Ratte eine experimentelle Myotonie hervor, deren charakteristische Eigenschaften ziemlich die gleichen sind[36].

Harvey[61] nimmt an, daß der günstige Effekt von Chinin bei einer Myotonie hauptsächlich seiner kurarisierenden Eigenschaft und besonders seiner Wirkung auf die refraktäre Periode zuzuschreiben sei, welche letztere die wiederholten Reaktionen verhindert. Experimente am Froschrectus haben uns gezeigt, daß Chinidin, obwohl es die Sensibilität des Muskels für Kalium vermindert, keineswegs die relative Intensität der durch Sulfozyanid hervorgerufenen Sensibilisierung beeinflußt[131].

Die Analogien zwischen dem veratrinisierten Muskel und dem myotonen Muskel sind groß genug, um auf die Existenz eines gemeinsamen biochemischen Substrats schließen zu können. Verwandte Krankheiten, wie Albinismus, Alkaptonurie, Cystinurie usw. sind Ausdrucksformen einer gleichartigen Schädigung und haben fast immer ihren Grund im Fehlen eines Enzymsystems.

Man konnte sich bewogen fühlen, anzunehmen, daß der grundlegende Prozeß, auf den das Veratrin einwirkt, auch von Enzymnatur ist[6]. Im Augenblick kann man über diese Hypothese noch nicht in eine fruchtbare Diskussion eintreten. Wir müssen uns darauf beschränken, einige Erklärungsversuche der Veratrinwirkung auf den Nerv und auf den quergestreiften Muskel zu erwähnen.

d) *Allgemeine Hypothesen über die Wirkung von Veratrin auf Nerv und quergestreiften Muskel.* Es scheinen keine Meinungsverschiedenheiten darüber zu bestehen, daß Veratrin den Repolarisationsprozeß beeinflußt.

Nach der Arbeitshypothese von Gordon und Welsh[55] hindert das Veratrin das Kalzium daran, seinen Platz an der Oberfläche der Nervenfaser nach Reizung wieder einzunehmen, und erhält dadurch einen Zustand der Depolarisation aufrecht. Diese Hypothese ist ein Spiegelbild der von Bacq seit 1939 vorgeschlagenen[6]. Nach der Meinung dieses Forschers verhindert Veratrin das Kalium daran, sich wieder an der Oberfläche der Membran festzusetzen und behält seine depolarisierenden Eigenschaften bei. Diese Hypothese ist mit den Schlußfolgerungen verwandt, die Shanes[123] gezogen hat: „these considerations suggest a) that potassium normally is released during the spike and is to a large extent rapidly reabsorbed, b) that veratrine interferes with the reabsorption process, c) that activity leaves a residuum of potassium which can be restored only by the operation of a considerably slower metabolic process."

Eine dritte Interpretation fußt auf den jüngsten Arbeiten von Hodgkin[73]. Nach Meinung dieses Forschers ist die elektrische Spannung des Aktionspotentials einer isolierten Muskelfaser um 30 *mV* höher als das Polarisationspotential, das 90 *mV* beträgt. Diese Tatsache könnte durch das Eindringen von Natriumionen erklärt werden, die die Kaliumionen verdrängen. Der Vorgang der Wiederherstellung des früheren Zustandes besteht wesentlich in der Verdrängung der Natriumionen, die in die Nerv- oder Muskelfaser während der Reizung eingedrungen waren. Es ist wohl klar, daß Veratrin die Anfangsphase der Exzitation nicht beeinflußt, und man kann annehmen, daß seine besondere Wirkung im wesentlichen darin besteht, die Wiederherstellungsperiode und dementsprechend die Verdrängung der Natriumionen zu verlangsamen.

Ob man nun die Kalium- die Kalzium- oder die Natriumhypothese für richtig hält, so kommt man doch wieder auf einen Ionenvorgang zurück, wenn man versucht, die Wirkung des Veratrins und der Veratrinderivate zu verstehen.

6. Glatter Muskel, Sympathikusganglien, Adrenalinsekretion.

Wir wollen hier nicht die Reaktionen des *glatten Muskels* besprechen, sie scheinen im allgemeinen durch die Kaliumsensibilisatoren wenig beeinflußbar zu sein, obwohl Veratrin den isolierten Darm des Kaninchens[6] für die Kaliumwirkung sensibilisiert, ebenso wie den glattmuskeligen Ductus deferens des Meerschweinchens und eine große Anzahl von Muskeln der Wirbellosen[5, 50].

Die Arbeiten, die sich mit einem Vergleich der Wirkung von Kalium und der Kaliumsensibilisatoren auf die *sympathischen Ganglien* befassen, machen es auch nicht leicht, darauf zu schließen, daß die Veratrinwirkungen sich durch eine Potenzierung der Effekte der Kaliumionen erklären.

Nach Hazard[64] verstärkt Spartein die durch eine intravenöse Injektion von KCl hervorgerufene *Adrenalinsekretion* und verhindert die „Nikotin"-Wirkung des Azetylcholins auf die Nebenniere. Auch beim Froschrectus verstärkt Spartein die Kaliumwirkung und vermindert die Wirkung des Azetylcholins[26].

Veratrin regt die Ausscheidung von Adrenalin aus der isolierten Nebenniere an[93]. Das gleiche gilt für Veratridin, während Cevin bedeutend weniger wirksam ist[100]. Die durch Kalium hervorgerufene Adrenalininkretion wird durch Veratrin vermehrt[74].

V. Kaliumsensibilisation in der Pathologie.

Das Vorhandensein von verschiedenen Kaliumsensibilisatoren im Plasma des Menschen und der Tiere wirft die Frage auf, welche Rolle sie für die Physiologie und Pathologie spielen. Das ist besonders für Sulfozyanid der Fall, dessen Konzentration durch Tabakgenuß deutlich erhöht wird[97, 68, 12]. Es gilt auch für Methylxanthine aus der Nahrung und für gewisse aus dem Stoffwechsel von Eiweiß und Nukleoproteiden stammende Substanzen (Guanidin, Xanthin, Harnsäure, Uracil).

Bei vielen dieser Stoffe hat man große Schwierigkeiten bezüglich der Dosierung zu überwinden, und bisher verfügt man noch über keinen einfachen und genauen Test, der gestatten würde, das Gesamtsensibilisationsvermögen des Plasmas zu bestimmen. Die ersten Versuche in dieser Richtung, die von Bacq und Charlier[9] durchgeführt wurden, haben die Schwierigkeit dieses Problems erwiesen.

Im Augenblick kann man nur vermuten, daß Kaliumsensibilisation bei den verschiedenen Vorgängen bei Muskelklonus, wie z. B. solchen, die im Zusammenhang mit Schwangerschaftstoxikosen, mit Hypoparathyreodismus und Niereninsuffizienz auftreten, eine Rolle spielen kann[52]. Allerdings bestehen hierüber nur Arbeitshypothesen, die hier nicht besprochen werden sollen. Wir werden uns darauf beschränken, auf eine therapeutische Anwendung, die sich direkt aus den vorher beschriebenen Versuchsergebnissen ableiten läßt, hinzuweisen.

1. Die Vergiftungen durch Kaliumsensibilisatoren können eine gewisse Bedeutung erlangen infolge therapeutischer Verwendung einzelner Substanzen aus dieser Gruppe bei arteriellem Hochdruck. Die Behandkung von Vergiftungen durch Veratrin, Sulfozyanid und auch Akonitin hat jetzt eine exakte physiologische Basis. Der empirische Gebrauch von Magnesiumsalzen[77] oder einer Mischung von Kalzium- und Magnesiumsalzen[103, 48] ist von dem physiologischen Standpunkt gerechtfertigt, denn diese beiden Ionen sind Antagonisten des Kaliums, dessen Effekte durch Akonitin, Sulfozyanid und Veratrin verstärkt sind[14]. Intravenöse Anwendung von Kalziumionen hebt augenblicklich die durch Sulfozyanid und Veratrin hervorgerufene Senkung des Herzminutenvolumens auf[10].

BOSTON
NOV 3 1952

BOSTON MEDICAL LIBRARY MAY 8 1961

Die Mischung von Magnesium- mit Kalziumionen ist deswegen angezeigt, weil Magnesium selbst eigene Gifteffekte besitzt, die aber durch Kalzium aufgehoben werden.

Auf Grund von experimentellen Angaben haben Bacq und Goffart[14] vorgeschlagen, beim Menschen die Behandlung der Vergiftung durch Akonitin, Veratrin oder Sulfozyanid mit einer intravenösen Injektion von 1—2 g Magnesiumsulfat in 10% Lösung und von 1—3 g Kalziumglukonat oder Kalziumthiosulfat zu beginnen.

2. Andererseits könnte man die Möglichkeit ins Auge fassen, die Veratrinderivate zur Dekurarisierung bei der Anästhesie mit Kurare zu verwenden. Die Spezialisten dieser Technik bedienen sich des Physostigmins (Eserin) oder des Prostigmins (Neostigmin) als Wirkstoff gegen Kurare, aber es treten Fälle ein, daß dieses Eserin unzureichend ist oder daß seine hemmende Wirkung durch Anreicherung von Azetylcholin an der motorischen Endplatte zu stark wird. Dann steht der Operateur vor einem Dilemna; er könnte ein reines Alkaloid des Veratrins anwenden, auf Grund genauer Auswahl der von amerikanischen Chemikern und Pharmakologen untersuchten und isolierten Alkaloide des Veratrins[87].

3. Verschiedene Kliniker haben mit Erfolg versucht, die Symptome der Myasthenie dadurch zu dämpfen, daß sie bei den Kranken Veratrin oder andere Substanzen, die die Muskelreaktionen wiederholbar machen, neben der Anticholinesterase Therapie mit Hilfe von Eserin, Prostigmin Di-isopropylfluorphosphonat (D. F. P.) usw. in Anwendung brachten Guanidin ist bei einigen Kranken mit Myasthenie ebenfalls mit Erfolg verwendet worden[102].

Auf diesem Gebiet, wie auch auf den anderen bleibt noch viel zu tun.

Am Schlusse dieses Berichtes möchte ich nochmals hervorheben daß das Ergebnis der Prüfung der Kaliumsensibilisatoren und deren physiologischer Eigenschaften entweder auf die Existenz einer Beziehung zwischen dem beobachteten Effekte und der Kaliumsensibilisation schließen läßt, — oder diese verneinen läßt. Vieles bleibt noch ungeklärt. Wir nehmen an, daß man auf Grund unserer heutigen Kenntnisse die wesentliche Bedeutung der Kaliumsensibilisation in gewissen Fällen und für gewisse Substanzen als gegeben ansehen kann. In anderen Fällen dagegen scheint diese Eigenschaft nur eine untergeordnete Bedeutung zu haben und kann die experimentellen Ergebnisse nicht erklären. Es wird vor allem zukünftigen exakten biochemischen Untersuchungen vorbehalten sein, uns Endgültiges über die Bedeutung der Phänomene der Kaliumsensibilisation zu sagen. Die bis heute gemachten Feststellungen sind jedenfalls verlockend genug, weitere Anstrengungen zu rechtfertigen.

Literatur.

[1] Acheson, G. H.: J. nerv. Dis. **100**, 616 (1944). — [2] Amann, A., u. A. Jarisch: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 46 (1943). — [3] Amann, A., A. Jarisch u. H. Richter: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 158 (1941). — [4] Amann, A., u. H. Schaefer: Pflügers Arch. **246**, 757 (1943). — [5] Bacq, Z. M.: Pubbl. Staz. zool. Napoli **18**, 1 (1939). — [6] Bacq, Z. M.: Arch. internat. Pharmacodynamie **63**, 59 (1939). — [7] Bacq, Z. M.: Bull. Acad. Méd. Belg. **12**, 255 (1947). — [8] Bacq, Z. M., u. G. L. Brown: J. Physiol. **89**, 45 (1937). — [9] Bacq, Z. M., u. R. Charlier: C. r. Soc. Biol. Paris **141**, 530 (1947). — [10] Bacq, Z. M., R. Charlier, E. Philippot u. P. Fischer: Arch. internat. Pharmacodynamie **77**, 347 (1948). — Brit. J. Pharmacol. Chemother. **4**, 162 (1949). — [11] Bacq, Z. M., u. G. Coppee: Arch. internat. Physiol. **51**, 35 (1941). — [12] Bacq, Z. M., u. P. Fischer: Bull. Soc. Chim. biol. Paris **29**, 308 (1947). — [13] Bacq, Z. M., u. M. Goffart: Arch. internat. Physiol. **49**, 189 (1939). — [14] Bacq, Z. M., u. M. Goffart: Liège Médical, No. 18 (1940). — [15] Barker, M. H., J. A. M. A.: **106**, 762 (1936). — [16] Bekaert, J., u. I. Leusen: Arch. internat. Physiol. **57**, 229 (1949). — [17] Bethe, A., u. F. Francke: Biochem. Z. **156**, 190 (1925). — [18] Bezold, A. v., u. L. Hirt: Unters. physiol. Lab. Würzburg **1**, 73 (1867). — [19] Bishop, G. H., u. A. I. Kendall: Amer. J. Physiol. **88**, 77 (1929). — [20] Boehm, R.: Heffter Handbuch der experimentellen Physiologie, J. Springer, 2. Band, I. Teil, 283 (1920). — [21] Bremer, F., u. J. de Smedt: Arch. internat. Physiol. **55**, 290 (1947). — [22] Brown, G. L., u. A. M. Harvey: Brain **62**, 341 (1939). — [23] Chang, T. H., R. W. Gerard u. M. Shaffer: Amer. J. Physiol. **101**, 19 (1932). — [24] Charlier, R.: Experentia **3**, 35 (1947). — [25] Charlier, R., u. R. Goutier: Unveröffentlicht — [26] Coppee, G.: Arch. internat. Physiol. **53**, 327 (1943). — [27] Coppee, G., u. M. Goffart: Unveröffentlicht — [28] Coppee, G., u. R. Goutier: Arch. internat. Physiol. **56**, 177 (1948). — [29] Curtis, H. J., u. K. S. Cole: J. Cell. Comp. Physiol. **19**, 135 (1942). — [30] Dawes, G. S.: J. of Pharmacol. **89**, 325 (1947). — [31] Derouaux, G.: Arch. internat. Pharmacodynamie **67**, 257 (1942). — [32] Derouaux, G., u. Z. M. Bacq: Acta Biol. Belgica **2**, 248 (1941). — [33] Eichholtz, F., A. Fleckenstein, u. R. Muschawek: Klin. Wschr. **27**, 71 (1949). — [34] Eichler, W.: Z. Biol. **99**, 243 (1938). — [35] Euler, U. S. v.: Skand. Arch. Physiol. **80**, 94 (1938). — [36] Eyzaguirre, C., B. P. Folk, K. L. Zierler u. J. L. Lilienthal jr.: Amer. J. Physiol. **155**, 69 (1948). — [37] Feng, T. P.: Chin. J. Physiol. **13**, 119 (1938). — [38] Feng, T. P.: Chin. J. Physiol. **10**, 535 (1936); **13**, 239 (1938). — [39] Fenn, W. O.: Physiologic. Rev. **20**, 377 (1940). — [40] Fenn, W. O.: Amer. J. Physiol. **97**, 635 (1931). — [41] Fessard, A.: Propriétés rythmiques de la matière vivante. I: Nerfs myélinisés. II: Nerfs non myélinisés; Hermann, Paris, 1936. — [42] Fleckenstein, A., u. A. Hardt: Klin. Wschr. **27**, 360 (1949). — [43] Fredericq, H., u. Z. M. Bacq: Bull. Acad. Méd. Belg. p. 341 (1938). — Arch. internat. Pharmacodynamie, **60**, 423 (1938). — [44] Friend, D. G., u. R. W. Robinson: J. Labor. a. clin. Med. **24**, 832 (1939). — [45] Führer, H.: Heffter Handbuch der experimentellen Pharmakologie, J. Springer, I. Band, 684 (1923). — [46] Gasser, H. S.: Physiologic. Rev. **10**, 35. (1930). — [47] Gasser, H. S., C. H. Richards u. H. Grundfest: Amer. J. Physiol. **123**, 299 (1938). — [48] Geilenkirchen, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 152 (1941). — [49] Gellhorn, E.: Pflügers Arch. **219**, 761 (1928). — Amer. J. Physiol. **96**, 203 u. 477 (1931). — [50] Godeaux, J.: Arch. internat. Pharmacodynamie **67**, 425 (1942). — [51] Goffart, M.: Experientia **5**, 332 (1949). — [52] Goffart, M., u. Z. M. Bacq: Erg. Physiol. (erscheint demnächst). — [53] Goffart, M., u. R. Goutier: Arch. internat. Physiol. **57**, 297 (1950). — [54] Goffart, M., u. W. L. M. Perry: J. Physiol. (1950) (erscheint demnächst). — [55] Gordon, H. T., u. J. H. Welsch: J. Cell. Comp. Physiol. **31**, 395 (1948). — [56] Goutier, R.: Arch. internat. Physiol. **57**, 154 (1949). — [57] Goutier, R.: Arch. internat. Physiol. **57**, 185 (1949).

[58] Goutier, R.: Brit. J. Pharmacol. Chemotherap. **5**, 33 (1950). — [59] Halpern, B. H.: Comptes Rendus IIème Congrès de Thérapeutique, Brüssel, 1949. — [60] Hardt, A., u. A. Fleckenstein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 39 (1949). — [61] Harvey, A. M.: J. Physiol. **95**, 45 (1939). — [62] Harvey, A. M.: J. of Pharmacol. **68**, 494 (1940). — [63] Hauss, W. H., u. T. C. R. Shenn: Arch. internat. Pharmacodynamie **62**, 411 (1939). — [64] Hazard, R.: C. r. Soc. Biol. Paris **130**, 1105 (1939). — [65] Hegenauer, A. H., W. O. Fenn, D. M. Cobb: J. Cell. Comp. Physiol. **4**, 505 (1934). — [66] Herman, M.: Arch. internat. Pharmacodynamie **53**, 105 (1936). — [67] Herrera Ramos, F., u. Mitarbeiter: Arch. Soc. Biol. Montevideo **12** (1944). — [68] Herrera Ramos, u. P. Visca: Arch. Uruguay Med. Cirurg. y Espec. (1945). — [69] Hinchey, J. J., E. A. Hines u. R. K. Ghormley: Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. **22**, 275 (1947). — [70] Höber, R.: Pflügers Arch. **106**, 599 (1905). — [71] Höber, R., M. Andersch, J. Höber u. B. Nebel: J. Cell. Comp. Physiol. **13**, 195 (1939). — [72] Hodgkin, A. L., u. A. F. Huxley: J. Physiol. **106**, 341 (1947). — [73] Hodgkin, A. L.: J. gen. Physiol. (1950). — [74] Houssay, B. A., u. C. E. Rapela: C. r. Soc. Biol. Paris **142**, 1161 (1948). — [75] Howell, W. H., u. W. W. Duke: Amer. J. Physiol. **21**, 51 (1908). — [76] Hueber, E. F. v.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 541 (1937). — [77] Hueber, E. F., u. D. Lehr: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 25 (1938). — [78] Huidobro, F., u. R. Poblete: Amer. J. Physiol. **158**, 141 (1949). — [79] Jacoby, C.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **27**, 119 (1890). — [80] Jarisch, A.: Klin. Wschr. **20**, 1045 (1941). — [81] Jarisch, A., u. C. Henze: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **187**, 706 (1937). — [82] Jarisch, A., u. H. Richter: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 347 u. 355 (1939). — [83] Jarisch, A., u. Y. Zottermann: Acta Physiol. Scandin. **16**, 31 (1948). — [84] Job, C.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **202**, 633 (1943). — [85] Kennedy, F., u. A. Wolf: Arch. of Neur. **37**, 68 (1937). — [86] Kodera, Y., u. E. Th. Brücke: Pflügers Arch. **220**, 274 (1928). — [87] Krayer, O., u. G. H. Acheson: Physiol. Rev. **26**, 383 (1946). — [88] Krayer, O., C. K. Moe u. R. Mendez: J. of Pharmacol. **82**, 167 (1944). — [89] Krayer, O.: E. H. Wood u. G. Montez: J. of Pharmacol. **79**, 215 (1943). — [90] Kuffler, S. W., J. Neurophysiol. **6**, 99 (1943). — [91] Kuffler, S. W.: J. Neurophysiol. **8**, 113 (1945). — [92] Kuffler, S. W.: J. Neurophysiol. **9**, 367 (1946). — [93] Kusnetzow: Z. exper. Med. **48**, 679 (1926). — [94] Lanari, A.: Science (Lancaster, Pa.) **104**, 221 (1946). — [95] Lapicque, L., u. M. Lapicque: C. r. Soc. Biol. Paris **72**, 283 (1912). — [96] Lapicque-M., u. F. Vahl: C. r. Soc. Biol. Paris **107**, 481 (1931). — [97] Lawton, A. H., T. R. Swerney u. H. C. Dudley: J. ind. Hyg. **25**, 13 (1943). — [98] Lecomte, J., E. Vanremoortere und P. Fischer: erscheint demnächst. — [99] Lehnartz, E.: J. Physiol. **86**, 37 (1936). — [100] Mendez, R., u. G. Montes: J. of Pharmacol. **78**, 238 (1943). — [101] Migliaro, E. F.: Arch. Soc. Biol. Montevideo: **12**, 267 (1945). — [102] Minot, A. S., K. Dodd u. S. S. Riven: Science (Lancaster, Pa.) **87**, 34 (1938). — [103] Mladoveanu, C., O. Vasileco u. P. Gheorghiu: Arch. internat. Pharmacodynamie **63**, 494 (1939). — [104] Moe, G. K., D. L. Bassett u. O. Krayer: J. of Pharmacol. **80**, 272 (1944). — [105] Mosera, R.: Arch. Soc. Biol. Montevideo **14**, 76 (1947); **15**, 33 u. 40 (1948). — [106] Neuschlosz, S.: Pflügers Arch. **196**, 503 (1922). — [107] Oury, A:. Arch. internat. Physiol. **44**, 488 (1937). — [108] Pannier, R.: Arch. internat. Pharmacodynamie **64**, 476 (1940). — [109] Pauli, W.: Münch. Med. Wschr. **50**, 153 (1903). — [110] Querido, A.: Arch. néerl. Physiol. **12**, 28 (1928). — [111] Richter, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 40 (1939). — [112] Richter, H., u. A. Amann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 275 (1940). — [113] Richter, H., u. H. Schröcksnadel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **191**, 23 (1939). — [114] Richter, H., u. H. Thoma: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **193**, 622 (1940). — [115] Riesser, O., u. F. Richter: Pflügers Arch. **207**, 287 (1925). — [116] Schaeffr, H.: Dtsch. Z. Nervenheilk. **67**. 225 (1921). — [117] Schaefer, H.: Elektrophysiologie.

F. Deuticke, Wien, 1940, vol. I. — [118] Schaefer, H., u. H. Licht: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **115**, 180 (1926). — [119] Schaefer, H., u. H. Licht: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **115**, 196 (1926). — [120] Schmitt, F. O.: Cold Spring Harbour Symp. **4**, 188 (1936). — [121] Scholten, C.: Ärztl. Forsch. **1**, 364 (1947). — [122] Shanes, A. M.: J. gen. Physiol. **33**, 57 (1949). — [123] Shanes, A. M.: J. gen. Physiol. **33**, 75 (1949). — [124] Szent-Györgyi, A., Z. M. Bacq u. M. Goffart: La Nature **143**, 522 (1939). — [125] Thompson, V., u. A. Tice: J. of Pharmacol. **73**, 454 (1941). — [126] Torda, C., u. H. G. Wolff: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **58**, 29 (1945). — [127] Torda, C., u. H. G. Wolff: Amer. J. Physiol. **145**, 419 (1945). — [128] Torda, C., u. H. G. Wolff: Amer. J. Physiol. **146**, 567 (1946). — [129] Vanremoortere, E.: Amer. J. Physiol. **154**, 455 (1948). — [130] Vanremoortere, E.: J. of Pharmacol. **96**, 276 (1949). — [131] Vanremoortere, E.: Arch. internat. Pharmacodynamie (erscheint demnächst). — [132] Vanremoortere, E.: Unveröffentlichte Resultate. — [133] Verzar, F., u. F. Peter: Pflügers Arch. **207**, 192 (1925). — [134] Westphal, K., u. R. Blum: Dtsch. Arch. klin. Med. **152**, 331 (1926). — [135] Wilbrandt, W.: J. gen. Physiol. **20**, 519 (1937).

A. Fleckenstein (Heidelberg): Korreferat: Kaliumsensibilisatoren.

Mit 1 Textabbildung.

I. Die Kalium- und Natriumverschiebungen bei der Muskelerregung und -verkürzung.

Eine Beteiligung von Kalium an den Prozessen der Nerven- und Muskelerregung sowie bei der Muskelkontraktion ist schon seit Jahrzehnten immer wieder zur Diskussion gestanden. Es ist heute gesichert, daß bei jeder Muskelzuckung K^+-Ionen von der erregten Faser nach außen abgegeben werden. Bei Reizung von Muskeln in situ bis zur Erschöpfung beträgt nach den ausgedehnten Untersuchungen der Fenn-schen[1] Schule der K^+-Verlust bis etwa 20% des Bestandes. Die K^+-Abgabe des gereizten Muskels läßt sich ohne Schwierigkeiten auch durch Analyse des abfließenden Venenblutes verfolgen. Bei maximaler tetanischer Reizung des N. ischiadicus mit Kondensatorentladungen steigt nach unseren Untersuchungen das Plasma-K^+ in der V. femoralis einer Katze nicht selten schon im Laufe von 1 min auf Werte über 30 mg% an. Das Plasma-K^+ im Venenblut des ungereizten Beines bleibt dagegen fast unverändert (vgl. Abb. 1). Die Untersuchungen bestätigen frühere Ergebnisse von Somogyi und Verzar[2] sowie von Wood, Collins und Moe[3]; eine feste Relation zwischen K^+-Abgabe und Muskelarbeit hat sich jedoch nicht ergeben, engere Beziehungen scheinen zwischen K^+-Abgabe und Reizfrequenz zu bestehen.

Nicht nur bei der normalen Muskelkontraktion, sondern auch bei den Kontrakturen des isolierten Kaltblütermuskels durch Avertin, Chloroform, Koffein, Wärme, Milchsäure, verdünnte Natronlauge und Rhodannatrium tritt K^+ aus dem Faserinnern aus (Hardt und Fleckenstein[4]). Die K^+-Abgabe beginnt mit der Verkürzung und nimmt mit wachsender

Kontraktur weiter zu. Wesentlich geringer sind die K^+-Austritte während der Nikotin- und Azetylcholinkontraktur. Bei der Veratrinverkürzung ist eine K^+-Abgabe von Bacq und Mitarbeitern[5] nachgewiesen worden, bei der Guanidinverkürzung von Rittmann und Form[6], bei der Monojodessigsäurekontraktur von Somogyi und Verzar[7]. Bei Gleichstromdurchströmung des Muskels werden K^+-Ionen auf elektrischem Wege unter der Kathode freigesetzt; dementsprechend reagiert der Muskel

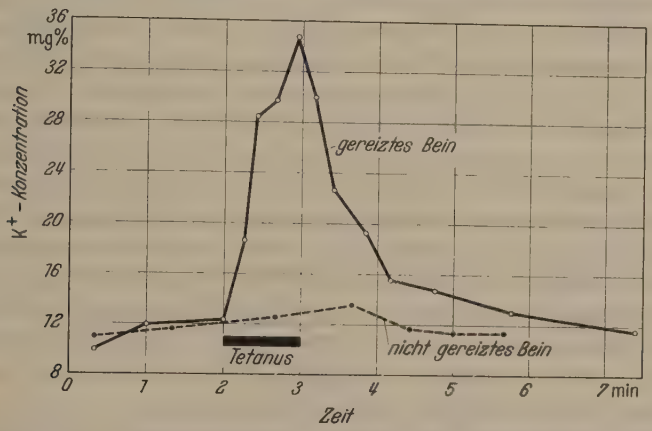


Abb. 1. K^+-Abgabe des M. gastrocnemius bei tetanischer Reizung des N. ischiadicus. Bestimmung des Plasma-Kaliums im abfließenden Blut der V. femoralis. Anstieg des Plasma-K^+ innerhalb 1 min auf 35 mg%, anschließend rascher Abfall. Der K^+-Gehalt im Plasma des Venenblutes aus dem ungereizten Bein ändert sich nicht. Katze ♂ 3,6 kg, Belastung des M. gastrocnemius mit 2000 g. N. peronaeus durchschnitten, Venen aus anderen Muskelgebieten nach Möglichkeit unterbunden. Die Kaliumbestimmungen wurden mit dem Flammenphotometer von Staab und Staab-Hardt durchgeführt.

unter der Kathode mit einer lokalen Kontraktur, dem bekannten „Kathodenwulst". Alle diese Befunde führen zu der Vorstellung, daß der Grundprozeß der Muskelverkürzung mit dem Austritt von K^+-Ionen aus dem Faserinnern in engem Zusammenhang steht.

Wird die extrazelluläre K^+-Konzentration über die Norm gesteigert, so daß der K^+-Austritt nicht mehr über die nötige Höhe des Konzentrationsgefälles erfolgen kann, so nimmt die elektrische Erregbarkeit der Muskulatur ab. Es ist erstaunlich, daß Overton[8] bereits 1902 die Kaliumlähmung auf diese Weise erklärt hat. Am isolierten, über den N. phrenicus gereizten Rattenzwerchfell führt schon eine Erhöhung der extrazellulären K^+-Konzentration auf 35 mg% zu einer Verschlechterung der Muskelleistung; bei 40—45 mg% K^+ kommt es zu einem steilen Abfall der Kontraktionen bis zur Unerregbarkeit (Taugner, Taugner, Lohmüller und Fleckenstein[9]). Nach Auswaschen mit normaler Säugetier-Ringerlösung erholt sich ein solches Zwerchfell rasch wieder. Bei Verstärkung der Ca^{++}-Konzentrationen setzt — völlig entsprechend

den Verhältnissen am Froschmuskel — die K^+-Lähmung erst bei einer höheren K^+-Konzentration ein.

Es ist sehr wesentlich, daß die im Plasma von adynamen adrenalektomierten Ratten gefundenen K^+-Werte von 35—45 mg% mit den K^+-Konzentrationen identisch sind, die die Tätigkeit des normalen isolierten Rattenzwerchfells lähmen. Für die kritische Adynamie bei Nebennierenin suffizienz scheinen tatsächlich diese abnorm hohen K^+-Werte ausschlaggebend zu sein; denn isolierte Zwerchfelle aus völlig adynamen — im Massetertest nach Eichholtz und Hotovy[10] schon nach wenigen Minuten versagenden — Tieren* arbeiten in normalem Elektrolytmilieu wieder stundenlang und verhalten sich dann in allen Reaktionen wieder gleich den Zwerchfellen aus normalen Ratten. Selbst Zwerchfelle aus Ratten, die in der adynamen Krise zugrunde gehen, zeigen — nach dem Atmungsstillstand herauspräpariert — in gleichem Elektrolytmilieu keine eindeutigen Unterschiede in der Arbeitsleistung gegenüber normalen Zwerchfellen: Erhöht man aber die K^+-Werte der Lösung wieder auf die für die NN-Rindeninsuffizienz charakteristischen Werte von 40—45 mg%, so tritt auch bei den Zwerchfellen aus NN-rindenlosen Tieren Unerregbarkeit ein. Die kritische Adynamie bei NN-Rindeninsuffizienz wird dem Muskel also offenbar von außen durch die K^+-Erhöhung im extrazellulären Raum aufgezwungen.

Die Abgabe von K^+-Ionen erfolgt bei der normalen Muskelkontraktion im Austausch gegen eine äquivalente Menge extrazellulärer Na^+-Ionen (Fenn[1], Tipton[11], Steinbach[12] u. a.). Nach Malorny und Netter[13] kann das Fasernatrium erschöpfter Muskeln bis um 100% erhöht sein. Steht kein extrazelluläres Natrium für diesen Eintritt in die Faser zur Verfügung, so erlischt bekanntlich am Muskel die Erregbarkeit. Die Lähmung des Muskels durch Natriumentzug in isotonischer Glukoselösung ist von Overton[8] schon 1902 auf diese Weise erklärt worden.

Ein Austausch von K^+ und Na^+ ist aber offenbar nicht nur bei der normalen Kontraktion, sondern auch bei den „Erregungskontrakturen" des Froschmuskels durch Azetylcholin, Cholin, Nikotin, Coniin von Bedeutung; denn sowohl an Na^+-verarmten Muskeln als auch in K^+-reichem Milieu verlieren diese Kontrakturstoffe ihre Wirksamkeit (Cicardo[14], Fleckenstein und Hertel[15], Fatt[16]).

II. K^+- und Na^+-Verschiebungen als Grundlage der bioelektrischen Erscheinungen bei Erregung, Kontraktion und Kontraktur.

Nach der Lehre der Elektrophysiologie (vgl. Schaefer[17]) sind die für die Erregung entscheidenden Prozesse an die Grenzflächen der

* Die zu diesen Untersuchungen verwendeten Tiere entstammten Versuchsreihen von Eichholtz, Hotovy, Collischonn u. Knauer [Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 576 (1949)].

Nerven- und Muskelfasern zu verlegen. Während die Membranen im Ruhezustand „gedichtet" sind, erfolgt im Augenblick der Erregung eine Auflockerung und Permeabilitätserhöhung der Grenzflächen; dabei verlieren sie ihre elektrische Aufladung (Depolarisation). Eine „Wolke" austretender K^+-Ionen ist — wie LABES[18] schon vor geraumer Zeit näher begründet hat — Ursache der elektronegativen Welle, die als Aktionsstrom über Nerv- und Muskelfaser abläuft. Die heute gültigen Vorstellungen über Erregung und Erregungsleitung stimmen darin überein, daß der Austausch von K^+ und Na^+ als der Grundprozeß der sich fortpflanzenden Erregung angesehen wird (vgl. Referat von Prof. WILBRANDT). Neueste Untersuchungen mit radioaktiven Isotopen (KEYNES[19]) scheinen am Nerven jetzt auch direkte Beweise für diese Theorie erbracht zu haben.

Während an der Nerven- und Muskelfaser jeweils nur die schnell wandernde erregte Zone K^+Abgabe, Permeabilitätserhöhung und Depolarisation zeigt, werden die Muskelfasern durch Kontrakturstoffe über ihre ganze Länge in einen stationären Zustand der Depolarisation versetzt. In Tab. 1 sind die Membran-(Verletzungs-)Potentiale des verkürzten M. rectus bei Einwirkung einer Reihe von Kontrakturstoffen wieder-

Tabelle 1.

Depolarisation des M. rectus bei Einwirkung kontrakturerzeugender Stoffe.

Kontrakturerzeugende Substanz	Konzentration	Einwirkungsdauer min	Mittleres Verletzungspotential	Anzahl der gemessenen Segmente
KCl	isoton. Lösung	1	12,9 (± 0,23)	180
RbCl	isoton. Lösung	1	12,1 (± 0,6)	30
Veratrin sulf.	1:2000	3	15,1 (± 0,36)	120
Nikotin	1:5000	3	16,6 (± 0,22)	330
Azetylcholin	1:1000	5	21,8 (± 0,9)	15
Cholin	1: 250	5	19,7 (± 0,7)	30
Coniin	1: 500	3	20,0 (± 0,36)	60
Koffein	1 :800	30	5,6 (± 0,4)	30
Avertin	1: 400	30	14,1 (± 0,6)	30
Mittleres Membranpotential des normalen M. rectus in verlängertem Zustand			30—34	einige hundert Messungen

gegeben (FLECKENSTEIN, WAGNER und GÖGGEL[20]). Die Potentiale wurden jeweils an den verletzten 3 mittleren Segmenten nach der Kompensationsmethode gemessen. Während das Membranpotential des normalen M. rectus im verlängerten Zustand 30—34 mVolt im Mittel beträgt, setzen Kontrakturstoffe übereinstimmend das Potential herab. Stark depolarisierend sind kontrakturwirksame Konzentrationen von Kaliumchlorid, Rubidiumchlorid, Veratrin und Nikotin. Bei Cholin und Coniin ist das Potential auf der Höhe der Kontraktur um etwas mehr als

10 mVolt erniedrigt. Azetylcholin (Konz. 1:1000) depolarisierte auf 21,8 mVolt im Mittel. Bei der Koffeinkontraktur (Konz. 1:800) war der Potentialverlust nach 30 min fast vollständig. Nach kathodenstrahloszillographischen Messungen bei der Avertin-, Chinin-, Koffein- und Wärmekontraktur des M. sartorius setzt die Verkürzung gleichzeitig mit der beginnenden Depolarisation ein und entwickelt sich dann parallel zu dem fortschreitenden Zusammenbruch des Membranpotentials weiter. Bei diesen Messungen ergab sich zum erstenmal eine annähernd lineare Abhängigkeit der Muskellänge vom Membranpotential.

Außerordentlich wichtig ist, daß eine Veratrinkontraktur (Biedermann[21]) und eine Azetylcholinkontraktur (Kuffler[22]) abgeschwächt wird, wenn man die depolarisierte Membran mit der Anode rein elektrisch wieder auflädt. Bei Ausschaltung des Stromes tritt dann die alte Kontraktur sofort wieder auf. Man muß hieraus den Schuß ziehen, daß die Depolarisation der Muskelfaser überhaupt den Grund- und Primärprozeß der Muskelverkürzung darstellt und daß umgekehrt Einflüsse, die dieser Depolarisation entgegenwirken, auch die Muskelverkürzung verhindern.

III. Die Beeinflussung des Membranpotentials und der K^+-Abgabe von Muskeln durch Lokalanästhetika.

Wir kommen damit zum Mechanismus der Kontrakturverhütung durch Lokalanästhetika. Lokalanästhetika können bekanntlich zahlreiche Kontrakturphänomene an der quergestreiften und glatten Muskulatur beseitigen (vgl. Laubender[23]). Der physiologische Muskeltonus wird abgeschwächt, die idiomuskulären Wülste, die Starre bei Tetanusinfektion, die Kontraktur isolierter Muskeln durch Azetylcholin, Cholin, Nikotin, Coniin, Koffein, Avertin, die Verkürzungszustände nach Veratrin, Guanidin, Rhodannatrium sind durch geeignete Lokalanästhetika zu verhindern oder abzuschwächen. Antagonismen bestehen auch gegenüber Bariumchlorid und Histamin. *Nach unseren Untersuchungen muß diese Wirkung der Lokalanästhetika wohl in allen Fällen auf eine Verhinderung der Depolarisation bezogen werden.*

Die Wirkung von Novocain[20] auf die Depolarisation und Verkürzung des M. rectus durch verschiedene Kontrakturstoffe ist aus Tab. 2 zu ersehen. Nikotin (Konz. 1:5000) depolarisierte z. B. bei 3 min Einwirkung gleichzeitig mit der Kontraktur bis auf 12,2 mVolt. Bei den paarigen Parallelmuskeln wurde die Nikotinkontraktur durch Vorbehandlung mit Novocain zu 100% verhindert; diese Muskeln zeigten dementsprechend noch ein Potential von 29,7 mVolt, d. h. praktisch noch das volle Ruhepotential. Bei der Veratrinkontraktur finden wir Depolarisation bis auf 15,1 mVolt, hier wurde mit Novocain 80,6% der Kontraktur unterdrückt, dementsprechend wurde auch die Depolari-

sation weitgehend, aber nicht vollständig verhütet: Der Wert von 25,8 mVolt entspricht nicht mehr ganz dem vollen Membranpotential im Ruhezustand. Die hier zusammengefaßten Ergebnisse zeigen, daß die Kontraktur immer dann durch Novocain vollständig blockiert wird, wenn die depolarisierenden Effekte der einzelnen Kontrakturstoffe vollständig aufgehoben werden; die Kontraktur wird dagegen nur teilweise verhindert, wenn die Depolarisation nur teilweise verhütet wird.

Tabelle 2.

Wirkung von Novocain auf die Depolarisation und Verkürzung des M. rectus.

Kontrakturstoff	Konzentration und Einwirkungsdauer des Kontrakturstoffes in Ringerlösung	Membran-(Verletzungs-)potential bei Kontraktur mVolt	Membran-(Verletzungs-)potential bei Kontrakturverhütung durch Novocain mVolt	Ausmaß der Kontrakturverhütung durch Novocain %	Konzentration und Dauer d. Vorbehandlung mit Novocain	Anzahl der für jeden Mittelwert gemessenen Segmente
Nikotin . . .	1:5000 3 min	12,2 (± 0,5)	29,7 (± 0,5)	100	1:800 10 min	30
Veratrin . .	1:2000 3 min	15,1 (± 0,36)	25,8 (± 0,7)	80,6 (± 3,5)	1:800 10 min	30
Azetylcholin .	1:1000 5 min	21,8 (± 0,9)	34,4 (± 1,0)	100	1:1000 30 min	15
Cholin . . .	1:250 5 min	19,7 (± 0,7)	29,7 (± 0,5)	98,0 (± 0,9)	1:800 10 min	30
Coniin . . .	1:500 3 min	20,4 (± 0,5)	29,7 (± 0,7)	100	1:800 10 min	30
Koffein . . .	1:800 30 min	5,6 (± 0,4)	28,0 (± 0,7)	89,7 (± 1,6)	1:800 60 min	30
Avertin . . .	1:400 30 min	14,1 (± 0,6)	25,8 (± 0,8)	80,1 (± 3,7)	1:800 60 min	30

In größeren Meßreihen[20] wurden auch die Membranpotentiale des M. rectus in Nikotinkontraktur sowie bei vollständiger Aufhebung der Kontraktur durch Vorbehandlung mit zahlreichen kontrakturverhütenden Stoffen (Lokalanästhetika, Antihistaminkörper, Atropin, Kurare, Myanesin usw.) untersucht. In allen Fällen zeigten die durch die verschiedensten Lokalanästhetika gegen die Kontraktur geschützten Muskeln noch das volle, für den verlängerten Ruhezustand charakteristische Membranpotential von 30—34 mVolt; diese Muskeln sind im elektrisch aufgeladenen Zustand fixiert und so gegenüber der depolarisierenden Wirkung von Nikotin unangreifbar. Auffällig ist, daß d-Tubocurarin neben Kurare (Merck) zu den stärksten Nikotin-Antagonisten zählt und nur von Parpanit übertroffen wird.

Während also Kontrakturstoffe durch Permeabilitätserhöhung der Grenzflächen das Membranpotential unter K^+-Austritten zur Entladung

bringen, haben Lokalanästhetika offenbar membranstabilisierende Effekte; dies ließ sich bei der Avertin- und Koffeinkontraktur des Froschgastrocnemius auch direkt nachweisen: Muskeln, die sich infolge Novocainbehandlung nicht mehr elektrisch entladen und verkürzen können, geben auch kein Kalium oder nur noch ganz wenig ab[4, 24]. *Die Grundwirkung der Lokalanästhetica ist also wohl darin zu sehen, daß sie die Depolarisation und K^+-Austritte an den Nerven- und Muskelfasermembranen durch einen entgegengerichteten Dichtungs- und Stabilisierungseffekt verhindern können.* Damit wird offenbar der Grundprozeß der Erregung, Erregungsleitung und Muskelverkürzung blockiert. Von dem amerikanischen Physiologen Shanes[25] ist eine ganz ähnliche Auffassung über den Wirkungsmechanismus der Lokalanästhetika geäußert worden.

IV. Lokalanästhetika und Kalzium.

Lokalanästhetika gleichen offenbar in ihrem Einfluß auf die Membranpermeabilität und Erregbarkeit den dichtenden, erregbarkeitshemmenden Ca^{++}-Ionen. Eine kapillardichtende Wirkung von i. v. injiziertem Novocain ist von Eichholtz[26] an der enthaarten Bauchhaut der Ratte mit der Saugmethode direkt nachgewiesen worden. Ca^{++}-Salze können übrigens ebenfalls Lokalanästhesie machen; bei einer Ca^{++}-Konzentration von über 40 mg% wird bei intrakutaner Injektion die Schmerzempfindung ausgeschaltet. Dies wurde schon von Rhode[27] für Kalziumchlorid gefunden und neuerdings von Eichholtz und Muschaweck[28] an einer Reihe von Ca^{++}-Salzen näher studiert. Ca^{++}-Ionen sind besonders gute Antagonisten der Kaliumkontraktur. Auch diese Wirkung beruht darauf, daß die depolarisierenden Effekte der K^+-Ionen bei Anwesenheit verstärkter Ca^{++}-Konzentrationen nicht mehr in Erscheinung treten können: Bei wachsenden $CaCl_2$-Konzentrationen wird die Kaliumdepolarisation und Kaliumkontraktur immer schwächer. Trägt man diese Mittelwerte für Potential und Kontraktur aus unseren Versuchsserien graphisch auf, so zeigt sich, daß auch bei der Kaliumkontraktur die Muskellänge etwa proportional zur elektrischen Membranladung sich ändert.

Die Muskelfaser liegt also offenbar immer dann im verlängerten Zustand vor, wenn die Membranen auf ein hohes Ruhepotential aufgeladen sind; sie verkürzt sich, wenn die Membranladung zusammenbricht, und streckt sich wieder in die Länge, wenn sich das Membranpotential regeneriert. Diese Regeneration des Membranpotentials und damit die Wiederverlängerung nach einer Kontraktur ist vom Stoffwechsel abhängig; die Erschlaffung ist ein aktiver Wiederaufladungsprozeß (Fleckenstein, Brose, Canis und Förderer[29]).

Zu erwähnen ist noch, daß Lokalanästhetika in stärkerer Konzentration und besonders in alkalischem Milieu nicht mehr Depolarisation und Kontraktur ver-

hüten, sondern selbst unter K^+-Austritten Depolarisation und Kontraktur erzeugen. Die Muskelkontrakturen durch Lokalanästhetika sind besonders von K. Zipf[30] studiert worden. Unsere eigenen Untersuchungen haben auch bei dieser Kontrakturform am M. rectus einen Parallelismus zwischen der Verkürzung und dem Potentialverlust ergeben.

V. Zur Blockierung der Nervenleitfähigkeit durch Pharmaka.

Gestatten Sie mir abschließend noch einige elektrophysiologische Bemerkungen zur Wirkung von Substanzen, die die Leitfähigkeit des Nerven aufheben können.

Die Elektrophysiologie unterscheidet bekanntlich 2 prinzipielle Möglichkeiten die Nervenleitung zu unterbrechen, nämlich

a) den Block durch die Kathode und

b) den Block durch die Anode.

Unter der Kathode wird bei Gleichstromdurchströmung des Nerven das Membranpotential entladen: Die Erregungswelle läuft dann in einen bereits depolarisierten Membranbezirk hinein und erlischt. Dagegen wird unter der Anode die Membran im elektrisch aufgeladenen Ruhezustand stabilisiert: Die Erregungswelle läuft in einen Membranbezirk hinein, der nicht depolarisiert werden kann und erlischt ebenfalls. Die Kathode vernichtet also die Leitfähigkeit des Nerven durch Entladung der Membran, die Anode umgekehrt durch Verhinderung der Entladung; beide Mechanismen stehen sich diametral gegenüber.

Wenn ein Lokalanästhetikum die Nervenleitung blockiert, so erfolgt dies durch Stabilisierung der Membran im aufgeladenen unerregten Zustand, d. h. nach dem Typ des Anodenblocks. Erst in höherer Konzentration wird vermutlich — ähnlich wie am Muskel — Depolarisation auftreten. Am Froschischiadicus ist von Bennett und Chinburg[31] schon 1946 gezeigt worden, daß eine durch Lokalanästhetika blockierte Nervenstrecke tatsächlich ihr Membranpotential beibehält.

Man kann aber umgekehrt auch durch depolarisierende Stoffe die Nervenleitung unterbrechen; ein solcher Block entspricht dann dem Kathodenblock. Solche depolarisierenden „Katelektrotonika" sind z. B. Kalium- und Rubidiumsalze und nach unseren Untersuchungen[32, 29] auch Ca^{++}-entionisierende Substanzen, weiterhin Veratrin, Capsaicin sowie die im Zitronensäurezyklus angreifenden Gifte der Zellatmung wie Bromzyan, Monobromazeton, Chlorazetophenon, Benzylbromid, Xylylbromid, Acrolein, Allylsenföl. Der Beweis, daß die Leitungsunterbrechung durch diese depolarisierenden „*Katelektrotonika*" infolge des Verlustes des Membranpotentials zustande kommt, ist von uns[33] dadurch erbracht, daß die Leitfähigkeit — trotz weiterer Einwirkung dieser Giftstoffe — mit Hilfe der Anode restituiert werden kann: *Eine durch diese Giftstoffe depolarisierte und damit blockierte Nervenstrecke wird*

durch die Anode auf rein elektrischem Wege wieder aufgeladen und erhält damit ihre Leitfähigkeit — in manchen Fällen noch länger als 2 Std nach dem Erlöschen — zurück. Die depolarisierende Kathode verstärkt dagegen noch die Giftwirkung.

Wenn die Nervenleitung des Froschischiadicus durch das depolarisierende Veratrin unterbrochen wird, so kann in diesem Fall der Block nicht nur durch die Anode, sondern auch durch ein — die Depolarisation verhinderndes — Lokalanästhetikum wieder aufgehoben werden. So kommt ein paradoxer, bisher unbekannter Lokalanästhetikumeffekt zustande: *Wiederherstellung der verlorenen Nervenleitfähigkeit durch ein Lokalanästhetikum*[34]. Dieser Versuch zeigt deutlich, daß die Unterbrechung der Nervenleitung durch Pharmaka — so wie Kathoden- und Anodenblock — auf einem diametral entgegengesetzten Mechanismus beruhen kann. Deshalb finden wir in diesem Versuch bei gleichzeitiger Anwendung von Veratrin *und* Lokalanästhetikum keine Addition der leitungsunterbrechenden Effekte, sondern eine Aufhebung. Die Wirkungsweise zahlreicher Pharmaka läßt sich auf elektro-physiologischer Grundlage ziemlich einfach erklären: Ein Übersichtsschema mag dies abschließend erläutern:

A. Anelektrotonika.

Grundwirkung:	Verhinderung der Depolarisation, Membrandichtung.
Stoffe dieser Art:	Ca^{++}-Salze, Lokalanästhetika, lokalanästhetische Antihistaminkörper, Atropin, Myanesin, Kurare usw.
Muskelwirkung:	Hemmung von Kontrakturen, Verhinderung der Kontraktion.
Nervenwirkung:	Lokalanästhesie, Leitungsunterbrechung vom Typ des Anodenblocks. *Der Block durch Anelektrotonika kann durch die Anode nicht aufgehoben werden.*

B. Katelektrotonika.

Grundwirkung:	Depolarisation
Stoffe dieser Art:	a) *direkt depolarisierend:* K^+-Salze, Rb^+-Salze, Ca^{++}-entionisierende Stoffe (Na^+-Zitrat, Na^+-Oxalat, Na^+-Fluorid), Veratrin usw.
	b) *durch Hemmung des Stoffwechsels depolarisierend*[5] Bromzyan, Monobromazeton, Chlorazetophenon, Benzylbromid, Xylylbromid, Allylsenföl, Akrolein u. U. Anoxie selbst.
Muskelwirkung:	Erzeugung von Kontrakturen.
Nervenwirkung:	Schmerzerzeugung, dann u. U, Leitungsunterbrechung vom Typ des Kathodenblocks (Anaesthesia dolorosa). *Der Block durch Katelektrotonika läßt sich in allen Fällen durch die Anode aufheben.*

Die beiden Haupteffekte der Lokalanästhetika, nämlich a) die Blockierung der — als „Depolarisationswelle" sich fortpflanzenden — Nerven- und Muskelerregung sowie b) die Aufhebung der — durch

Dauerdepolarisation erzeugten — Muskelkontrakturen, erklären sich also bei dieser Betrachtungsweise zwanglos als Folge der gleichen stabilisierenden Grundwirkung auf die Membranladung. Umgekehrt verursachen die „Katelektrotonika" auf Grund ihrer depolarisierenden Grundwirkung am sensiblen Nerven Schmerz und am Muskel Verkürzungsphänomene.

Literatur.

[1] Fenn, W. O.: Physilogic. Rev. **16**, 450 (1936); **20**, 377 (1940). — Ann. Rev. Physiol. **1941**, 209. — [2] Somogyi, J. C., u. F. Verzár: Arch. internat. Pharmacodynamie **65**, 17 (1941). — [3] Wood, E. H., D. A. Collins u. G. K. Moe: Amer. J. Physiol. **126**, 657 (1939); **128**, 635 (1940). — [4] Hardt, A., u. A. Fleckenstein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 39 (1949). — [5] Bacq, Z. M.: Arch. internat. Pharmacodynamie **63**, 59 (1939). — [6] Rittmann, R., u. O. Form: Z. exper. Med. **48**, 191 (1926). — [7] Somogyi, J. C., u. F. Verzár: Helvet. Med. Acta Suppl. **7**, 81 (1940/41). — [8] Overton, E.: Pflügers Arch. **92**, 346 (1902); **105**, 176 (1904). — [9] Taugner, R., M. Taugner, Th. Lohmüller u. A. Fleckenstein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 219 (1950). — [10] Eichholtz, F., R. Hotovy u. H. Erdniss: Arch. internat. Pharmacodynamie **80**, 62 (1949). — [11] Tipton, S. R.: Amer. J. Physiol. **124**, 322 (1938). — [12] Steinbach, H. B.: Ann. New York Acad. Sci. **47**, 849 (1947). — [13] Malorny, G., u. H. Netter: Pflügers Arch. **238**, 153 (1937). — [14] Cicardo, V. H.: Rev. Soc. argent. Biol. **14**, 370 (1938). — [15] Fleckenstein, A., u. H. Hertel: Pflügers Arch. **250**, 577 (1948). — [16] Fatt, P.: J. of Physiol. **109**, 10 P (1949). — [17] Schaefer, H.: Elektrophysiologie I, Wien 1940. — [18] Labes, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **125**, 29 (1927). — [19] Keynes, R. D.: J. of Physiol. **107**, 35 P (1948); **109**, 13 P (1949). — [20] Fleckenstein, A., E. Wagner u. K. H. Göggel: Pflügers Arch. (im Druck). — [21] Biedermann, W.: Elektrophysiologie Jena 1895. — [22] Kuffler, St. W.: Ann. New York Acad. Sci. **47**, 767 (1947). — [23] Laubender, W.: Handb. d. exper. Pharmacol. Erg.-Werk Bd. 8. — [24] Fleckenstein, A.: Pflügers Arch. **250**, 643 (1948). — Fleckenstein, A., u. A. Hardt: Klin. Wschr. **27**, 360 (1949). — [25] Shanes, A. M.: Biol. Bull. Mar. biol. Labor.Wood's Hole **95**, 245 (1948). — Science (Lancaster, Pa.) **107**, 679 (1948). — [26] Eichholtz, F.: Klin. Wschr. (im Druck). — [27] Rhode, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **91**, 173 (1921). — [28] Eichholtz, F., u. R. Muschaweck: unveröffentlicht. — [29] Fleckenstein, A., W. Brose, H. J. Canis u. A. Förderer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 235 (1950). — [30] Zipf, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **149**, 105 (1930). — [31] Bennett, A. L., u. K. G. Chinburg: J. of Pharmacol. **88**, 72 (1946). — [32] Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung, eine pharmakologische Analyse der Kausalmechanismen Dr. Dietrich Steinkopff, Frankfurt/Main 1949. — [33] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharm. (im Druck). — [34] Fleckenstein, A.: Klin. Wschr. **1950**, 452.

Diskussion. Schäfer weist darauf hin, daß die tetanische Natur der Veratrinkontraktur zuerst von Eichler erwiesen wurde. Nach ihrer Wirkung auf die Herzrezeptoren wären auch Arterenol und andere Adrenalinderivate (Aludrin, Adrianol) unter die Kaliumsensibilisatoren zu rechnen. Bei der Theorie von Fleckenstein gibt er zu bedenken, daß die festgestellten Kaliumwirkungen an den Membranen mit Verkürzungen des Myosins korreliert werden. Die hierbei bestehenden, offenbar nur indirekten Beziehungen wären erst zu klären.

Soehring wendet sich gegen die einheitliche Erklärung aller lokalanästhetischen Effekte. Hinweis auf die Beobachtung von Peczenik und West, daß die Wirkung

von Pantocain, Stovain, aber nicht die von Novocain, auf das Phrenicus-Zwerchfellpräparat der Ratte durch Kalium verstärkt wird. Bei den Novocainwirkungen ist die Spaltung des Moleküls zu berücksichtigen. Froschmuskeln sind gegen das Spaltprodukt Diäthylaminoäthanol äußerst empfindlich.

Von Malorny wird darauf hingewiesen, daß Kaliumaustritte nach Koffein aus der Muskulatur, begleitet von einer nicht voll äquivalenten Natriumaufnahme, auch am Hund in Pernoktonnarkose nachweisbar sind.

Heubner betont trotz grundsätzlicher Billigung der kritischen Bemerkung von Schäfer, daß die Fleckensteinsche Auffassung das Verständnis der Koffeinwirkung erleichtert. Einmal stellen sich Beziehungen zwischen der Muskelwirkung und der von Fröhlich studierten Wirkung auf die Permeabilität der Blutkapillaren her und zweitens wird der Unterschied der Muskelwirkung an unseren beiden Froscharten verständlicher, weil artspezifische Unterschiede an den Membranen plausibler seien als solche an der kontraktilen Substanz.

Nach Lendle braucht die nach Behandlung mit thiolopriven Stoffen eintretende verlängerte Kaliumkontraktur nicht über den Lundsgaart-Effekt erklärt zu werden; denn auch die Spaltung der Adenosintriphosphorsäure erfolgt über ein SH-haltiges Ferment. L. macht ferner darauf aufmerksam, daß Fleckenstein eine Hemmung der Depolarisation auf Grund von antagonistischen Versuchen zu Kontrakturgiften annimmt. Für das Kurarin aber sei eine Hemmung der Membranpermeabilität unwahrscheinlich. Widerstandsmessungen nach Gildemeister wären vielleicht zur Klärung geeignet.

Schaumann: Durch Zusatz von Pantocain 1:1000 bei einem p_H von 7,3 wandelt sich eine Emulsion von Öl in Wasser mit einer zusammenhängenden wäßrigen Phase in eine Emulsion von Wasser in Öl mit einer zusammenhängenden Ölphase um. Dadurch werden in grob modellmäßiger Weise Veränderungen der Permeabilität und der elektrischen Eigenschaften nachgeahmt, wie sie bei der Wirkung der Lokalanästhetika auf Nervenleitung und Muskelkontraktur beobachtet werden.

Eichler erwähnt auch das Perchlorat als Kaliumsensibilisator. Es hat wie Rhodanid die Tendenz zur Aufsuchung der Phasengrenzen. Dadurch werden die elektrischen Felder vermehrt. Es können van der Waalsche Bindungen der Oberflächenschicht gelöst werden, wodurch Strukturänderungen möglich werden.

Ther weist auf die verstärkende Wirkung der Kaliumionen auf Lokalanästhetika hin und fragt an, wie diese Wirkung mit der Membrandichtungstheorie in Einklang zu bringen sei.

Rothschuh weist auf die Bedeutung der Kaliumsensibilisierung für die Entstehung der Extrasystolie des Herzens hin. Er erwähnt ferner eigene Versuche, aus denen sich die positivierenden Effekte des Novocains und Kokains auf die Muskelfaser, über die Fleckenstein berichtete, ebenfalls ergeben.

Druckrey betont die Notwendigkeit, auch drüsige Organe zur Untersuchung heranzuziehen. Bestimmten Pharmaka gegenüber, z. B. Koffein oder Nikotin, verhalten sich drüsige Gewebe ganz anders als Muskelgewebe. In anderen Punkten stimmen die an muskulären Organen gewonnenen Ergebnisse mit den von ihm an drüsigen Organen gewonnenen Ergebnissen überein.

W. Feldberg (London): Gegenwärtige Probleme auf dem Gebiet der chemischen Übertragung von Nervenwirkungen.

Mit 3 Textabbildungen.

Meine Damen und Herren! Mein letzter Besuch auf der deutschen Pharmakologentagung war im April 1932 in Wiesbaden. Die Tagung

wurde von O. Loewi eröffnet, und Sir Henry Dale hielt das erste Referat „Über Kreislaufwirkungen körpereigener Stoffe". Es berührt mich seltsam, daß ich heute nach 18 Jahren vor Ihnen stehe um gerade über das Gebiet zu sprechen, das mit diesen beiden Namen so eng verknüpft ist. Sie wissen, daß wir Loewi und Dale unsere wesentlichen Kenntnisse auf dem Gebiet der chemischen Nervenübertragung verdanken, und daß ihre Forschungen 1936 durch den Nobelpreis gekrönt wurden.

Unter anderem referierte damals Sir Henry Dale auch über Adrenalin und Azetylcholin, die beiden Stoffe, über die ich heute im wesentlichen sprechen werde. Wir brauchen nur Dales Referat durchzulesen, um den Fortschritt zu erkennen, der seit 1932 gemacht worden ist. Zahlreiche Probleme wurden erörtert. Viele sind unterdessen gelöst worden und legen Zeugnis ab von Dales überlegener Instinktsicherheit und Einsicht in physiologisches Geschehen. Andere harren noch ihrer Lösung, haben aber ihre Gültigkeit in beinahe derselben Form beibehalten, in der sie damals von Dale formuliert wurden. Dale berichtete über Versuche von Cannon, die auf einen sympathikomimetischen Stoff als Überträger der sympathischen Nervenwirkung hinwiesen, doch daß Cannon die Annahme zurückwies, der Stoff sei Adrenalin. Weiter konnte Dale darauf hinweisen, daß durch seine Versuche mit Dudley über die Isolierung von Azetylcholin in der Milz die Frage endgültig bejaht war, daß Azetylcholin ein natürlich in Geweben vorkommender Stoff sei. Und die Möglichkeit wurde erörtert, ob dieser Stoff eine Vermittlerrolle bei der peripheren parasympathischen Nervenübertragung spiele.

Heute wissen wir, Azetylcholin ist der Überträgerstoff zahlreicher Nervenwirkungen, und zwei sympathikomimetische Stoffe spielen dieselbe Rolle bei anderen Nervenwirkungen. Im Jahre 1933 prägte Dale die Terminologie: Cholinergische und adrenergische Nerven, Nervenfasern und Neurone. Cholinergische Nerven übertragen ihre Wirkung durch Azetylcholin, adrenergische durch Adrenalin und Noradrenalin (Arterenol).

1. Verteilung cholinergischer und adrenergischer Neurone.*

Die Forschungen der letzten Vorkriegsjahre beschäftigten sich mit der Frage der Verteilung dieser Nerven. Die Resultate sind in der folgenden Abbildung schematisch zusammengefaßt.

Der Nervenweg 2 und 4 ist der typische periphere Verlauf der sympathischen und parasympathischen Innervierung auf die Drüsenzellen, die glatten Muskelfasern und das Herz. Der periphere Weg besteht aus zwei Neuronen, und die Umschaltstelle oder die Nervenzellen liegen im

* Die wesentlichen Arbeiten finden sich im Journal of Physiology, beginnend 1933, und werden nicht im einzelnen im Literaturnachweis am Ende des Vortrages aufgeführt.

sympathischen Nervensystem nahe dem Zentralnervensystem, im parasympathischen nahe dem Erfolgsorgan.

Die postganglionären, parasympathischen Fasern sind cholinergisch; die meisten postganglionären, sympathischen Fasern sind adrenergisch. Einige, wie z. B. die postganglionären, sympathischen Fasern zu den

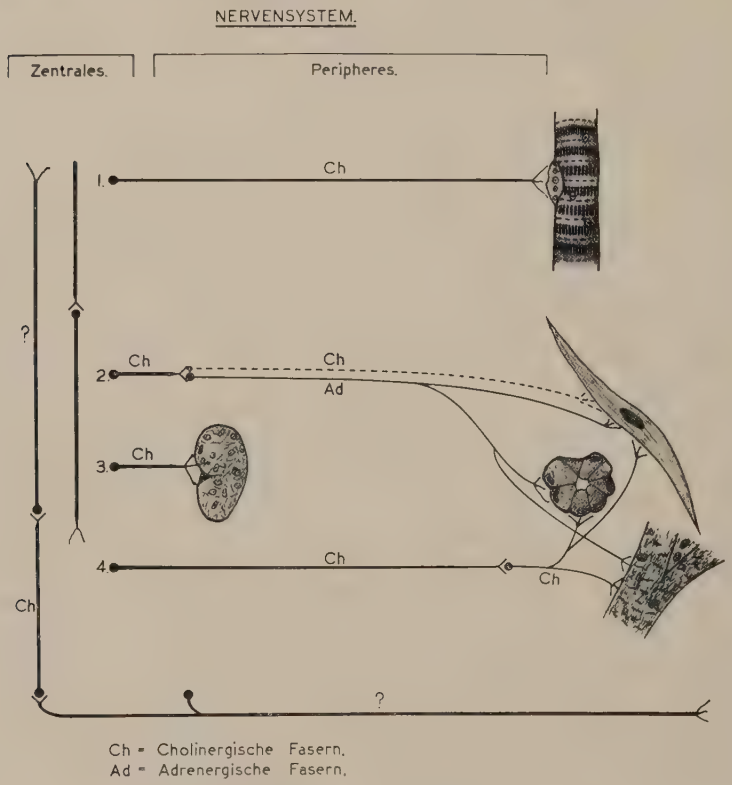


Abb. 1. Schematische Darstellung der Verteilung und Anordnung cholinergischer und adrenergischer Neurone.

Schweißdrüsen des Menschen, sind jedoch cholinergisch, obgleich sie anatomisch dem sympathischen Nervensystem zugehören. Sie sind in der Abbildung als gestrichelte Linie wiedergegeben.

Der nächste Fortschritt betraf die Übertragung von Nerv auf Nervenzelle, d. h. die synaptische Übertragung im autonomen Nervensystem. Wir können heute sagen, daß alle präganglionären sympathischen und parasympathischen Fasern cholinergisch sind.

Ein einziger peripherer sympathischer Nervenverlauf besteht aus einem Neuron und nicht, wie gewöhnlich, aus zweien: die Innervierung des Nebennierenmarkes. Entwicklungsgeschichtlich entstammen die

Markzellen und die sympathischen Ganglienzellen derselben Mutterzelle. Es ist daher nicht erstaunlich, daß die Natur der innervierenden Nervenfasern in beiden Fällen dieselbe ist. Die sympathischen Fasern zum Nebennierenmark sind cholinergisch (Nervenweg Nr. 3).

Soweit bezog sich die Übersicht nur auf das autonome Nervensystem. Es war jedoch bekannt, daß die folgenden Strukturen pharmakologisch viel Gemeinsames aufweisen: Die Ganglienzellen des autonomen Nervensystems und die motorischen Endplatten der quergestreiften Muskulatur. Die pharmakologische Verwandtschaft zeigt sich auch in der Innervierung. Die motorischen Fasern zu den quergestreiften Muskeln sind cholinergisch (Nervenweg Nr. 1).

Die Nervenbahnen 1—4 schließen alle efferenten peripheren Nerven ein und über die Natur ihrer Neurone besteht heute kaum ein Zweifel mehr. Dasselbe läßt sich nicht für die afferenten Nerven sagen. Über deren Natur sind wir noch im unklaren. Wir wissen z. B. nicht, wie die Übertragung von der sensorischen Nervenendigung zur Nervenzelle im Rückenmark zustande kommt. Die sensorischen Fasern sind weder cholinergisch noch adrenergisch. Im Zentralnervensystem haben wir es mit zahlreichen Synapsen zu tun und gewisse Tatsachen sprechen dafür, daß das Zentralnervensystem aus cholinergischen und nichtcholinergischen Neuronen aufgebaut ist; d. h. Azetylcholin ist sicherlich nicht der universelle, zentrale, synaptische Überträgerstoff, doch übt er diese Rolle wahrscheinlich an gewissen zentralen Synapsen aus.

Bis vor kurzem beruhte die Annahme von der cholinergischen Natur der präganglionären parasympathischen Faser im wesentlichen auf einem Analogieschluß. Es war experimentell nachgewiesen worden, daß Azetylcholin die Nervenerregung auf die sympathische Ganglienzelle überträgt und derselbe Mechanismus wurde für die Übertragung auf die parasympathische Nervenzelle gefolgert. Dies zu beweisen schien schwierig, weil die parasympathischen Ganglien nahe am, oder sogar im Erfolgsorgan liegen, so daß man sie nicht isoliert durchströmen kann. Wenn man z. B. die Speicheldrüsen durchströmt und die Chorda reizt, wird das freiwerdende Azetylcholin im wesentlichen von den postganglionären und nicht von den präganglionären Nervenendigungen stammen. Die Schwierigkeit haben Emmelin und Muren (1950) kürzlich durch folgenden Trick behoben: Sie durchströmten die Speicheldrüse, setzten aber der Durchströmungsflüssigkeit große Mengen Kurare zu. Dieses lähmt die Ganglien, so daß keine Erregung der postganglionären Fasern mehr stattfindet. Wenn dann die Chorda gereizt wurde, sezernierten die Speicheldrüsen nicht mehr, Azetylcholin trat aber noch, wenn auch in verringerter Menge, im venösen Abfluß auf; es konnte jetzt nur von den präganglionären Endigungen stammen. Somit ist auch für diese Faser die cholinergische Natur experimentell bewiesen.

2. Die Natur der Überträgerstoffe adrenergischer Nerven.

Es handelt sich um die Frage, welche Rolle Adrenalin und Noradrenalin (Arterenol) als Überträger dieser Nervenwirkungen spielen. Die bisherigen Ergebnisse sind kürzlich von Holtz (1950) zusammengestellt worden.

Bereits Cannon und Rosenblueth (1933) hatten gezeigt, daß bei Reizung sympathischer Nerven zwei sympathikomimetische Stoffe im Blut nachweisbar sind, die sie Sympathin I und E nannten, da sie annahmen, der eine hätte nur inhibitorische, hemmende, der andere nur exzitatorische, erregende Wirkungen. Die beiden fraglichen Stoffe sind heute als Adrenalin und sein nichtmethyliertes Homologon, Noradrenalin identifiziert worden. Diese Erklärung wurde bereits 1933 von Bacq gegeben, später aber von ihm vorübergehend zugunsten einer anderen Theorie fallengelassen.

Man ist sich heute auch darüber einig, daß die Ausdrücke Sympathin I und E besser aufgegeben werden, da Adrenalin nicht ausschließlich hemmend, Noradrenalin nicht ausschließlich erregend wirkt (von Euler, 1946; Bacq und Fischer, 1947; Gaddum, 1950). Um die großen Verdienste von Cannon auf diesem Gebiet aber anzuerkennen, haben Bacq und Fischer vorgeschlagen, den Ausdruck Sympathin beizubehalten und ihn zu benutzen, wenn man von Gemischen von Adrenalin und Noradrenalin spricht.

Um die physiologische Rolle des Noradrenalins zu klären, mußten erst empfindliche Methoden ausgearbeitet werden, mit denen sich die beiden Stoffe in Gemischen nachweisen ließen, ein Problem, das auch heute noch nicht zufriedenstellend gelöst worden ist. Die Schwierigkeit liegt darin, daß kein Testobjekt bekannt ist, welches auf Noradrenalin sehr viel stärker als auf Adrenalin anspricht. Dagegen trifft das Umgekehrte für verschiedene Testobjekte zu. Das Prinzip beim Auswerten, beruht darauf, daß man mit zwei oder mehreren Testobjekten arbeitet. Die Testobjekte werden so gewählt, daß bei einem die Empfindlichkeit für Adrenalin und Noradrenalin ziemlich die gleiche, beim anderen eine ganz verschiedene ist. Zum Beispiel die erschlaffenden Wirkungen an dem durch Azetylcholin oder Carbaminoylcholin (Carbachol, Doryl) kontrahierten Rattenuterus und Rattendarm. Am Rattendarm wirken Adrenalin und Noradrenalin in ungefähr gleich großen Dosen, der Uterus dagegen ist 75—300 mal empfindlicher für Adrenalin als für Noradrenalin. Gaddum und Lembeck (1949) benutzten diese beiden Reaktionen, um in einer Lösung, die Adrenalin und Noradrenalin enthält, deren Konzentrationen quantitativ nachzuweisen. Die Methode ist auf Befunde von de Jalon, Bajo und de Jalon (1945) und von Gaddum, Peart und Vogt (1949) aufgebaut. Um Fehler zu vermeiden, müssen die

Resultate statistisch ausgewertet werden. Burn, Hutcheon und Parker (1950) benutzen als Testreaktionen die Kontraktion der Nickhaut und die Blutdrucksteigerung bei der Katze. Noradrenalin ist an der Nickhaut viel unwirksamer als Adrenalin. Man geht so vor, daß man den unbekannten Extrakt einer Katze intravenös injiziert und dann eine Adrenalinmenge, die eine gleichstarke Blutdrucksteigerung macht. Enthielt der Extrakt teilweise Noradrenalin, so ist die Nickhautkontraktion natürlich schwächer als nach der Adrenalininjektion und, wie die Oxforder Forscher zeigen, läßt sich der prozentuale Gehalt an Adrenalin im Extrakt leicht berechnen, da er in einer linearen Abhängigkeit steht zum Verhältnis: Größe der Nickhautkontraktion und Blutdruckanstieg. Holtz und Schümann (1949) haben sich für ihren biologischen Nachweis von Noradrenalin die Tatsache zunutze gemacht, daß die hyperglykämische Wirkung von Noradrenalin nur etwa ein Zwanzigstel der des Adrenalins und seine darmhemmende Wirkung an der Katze ebenfalls viel schwächer ist. Beide Reaktionen bieten in Verbindung mit der blutdrucksteigernden Wirkung ebenfalls eine Grundlage zum biologischen Nachweis von Noradrenalin.

Neben dem Problem des biologischen Nachweises von Noradrenalin steht natürlich seine Pharmakologie im Vordergrund der Forschung. Vor allem die Frage inwieweit die Wirkung des Noradrenalins von der des Adrenalins abweicht. Eine gute Übersicht findet sich bei Holtz (1950). Auf mehrere wesentliche Unterschiede habe ich hingewiesen; ein nichterwähnter Unterschied, der wiederholt als Hinweis gedient hat, daß der Überträger zahlreicher sympathischer Nerven nicht mit Adrenalin identisch sein kann, ist der folgende: Stoffe wie Ergotoxin, Dibenamin und Dioxanderivate kehren die Adrenalinblutdrucksteigerung um, schwächen die Noradrenalinwirkung aber im wesentlichen nur ab.

Die Untersuchungen in den letzten Jahren haben gezeigt, daß Noradrenalin ein körpereigener natürlicher Bestandteil gewisser Nerven und des Nebennierenmarkes ist. Sein Vorkommen in anderen Organen beruht wahrscheinlich darauf, daß diese Organe adrenergische Nervenfasern enthalten. Der erste Nachweis in tierischen Geweben stammt von von Euler (1946), doch hatten Holtz, Credner und Kronberg (1944) vorher bereits Noradrenalin im Harn gefunden. Im normalen Nebennierenmark und in Marktumoren wurde es kurze Zeit danach unabhängig in vielen Ländern nachgewiesen, und zwar nicht nur mit biologischen Auswertungsmethoden, wie z. B. von Holtz (1948), Schümann (1948), Holton (1949), Gaddum und Lembeck (1949), Bülbring und Burn (1949), sondern auch mit der Filterpapierchromatographie und mit chemischen Methoden (von Euler und Hamberg, 1949; Goldenberg, Faber, Alston und Chargoff, 1949; Auerbach und Angel, 1949). In Amerika wird Adrenalin aus Nebennierenextrakten hergestellt, und

die untersuchten Handelspräparate (U. S. P. Epinephrin) enthielten 10—18%, in einem Fall sogar 36%, Noradrenalin; Noradrenalin war sogar kristallinischem Epinephrin beigemischt. Aus Epinephrinpräparaten konnte Tullar (1949), aus Rindernebennieren Bergström, von Euler und Hamberg (1949) Noradrenalin in chemisch reiner Form isolieren, und Holtz und Schümann (1949) fanden, daß aus Nebennieren gewonnenes kristallines „Rohadrenalin" 25% Noradrenalin enthielt.

Reizt man die Nebennierenmarkzellen entweder durch künstliche oder reflektorische Nervenreizung oder durch Drogen, so läßt sich nicht nur Adrenalin, sondern auch Noradrenalin im Nebennierenvenenblut nachweisen (Bülbring und Burn, 1949; Holtz und Schümann, 1949; Gaddum und Lembeck, 1949).

Was ist nun das Verhältnis dieser beiden Stoffe im Nebennierenvenenblut, ist das Verhältnis ein konstantes und wenn nicht, was sind die Faktoren, die es beeinflussen? Wie Goldenberg, Faber, Alston und Chargoff (1949) ausführen, würde eine 20%-Beimischung von Noradrenalin unsere bisherigen Vorstellungen über die Funktion des Nebennierenmarkes nicht wesentlich ändern. Nach Gaddum und Lembeck ist der Anteil des ausgeschütteten Noradrenalin nur 15—25%, nach Bülbring und Burn dagegen 20—80% und variabel. Der Anteil nimmt z. B. bei wiederholter Splanchnikusreizung stetig zu, es sei denn, die Versuchstiere (Katzen) waren vorher mit Methionin gefüttert worden.

Eng verbunden mit diesem Fragenkomplex ist das Problem, ob Noradrenalin eine Vorstufe des Adrenalins oder sein Endprodukt ist. Blaschko (1942) sah im Noradrenalin die Vorstufe des Adrenalins, Holtz, Credner und Kroneberg (1944) in ihm ursprünglich sein Endprodukt, da sie es im Harn nachgewiesen hatten. Folgende Befunde stützen die Ansicht von Blaschko: Die bereits erwähnte Tatsache, daß Methionin die Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren bei wiederholter Splanchnikusreizung aufrechterhält und der Nachweis, daß Nebennierenbreie sowie durchströmte Nebennieren Adrenalin aus zugesetztem Noradrenalin bilden. Bülbring (1949) fand, daß Suspensionen von Nebennierenbrei, die inkubiert wurden, Adrenalin aus Noradrenalin bildeten, vorausgesetzt, daß Adenosintriphosphat dem Medium zugesetzt war. Dieser Befund hat unabhängig von der Frage der Adrenalinbildung eine große Bedeutung, da er dem Adenosintriphosphat eine neue biochemische Funktion zuspricht, nämlich eine Rolle bei der Methylierung. Bülbring fand weiter, daß die methylierende Wirkung besonders ausgeprägt war, wenn der Splanchnikus vor Herausnahme der Nebennieren längere Zeit gereizt worden war. Bülbrings Befunde stehen in einem gewissen Gegensatz zu der ursprünglichen Anschauung von Holtz und Kroneberg; doch nehmen auch diese Autoren neuerdings an (1949),

daß Noradrenalin die Vorstufe des Adrenalins ist und weiter, daß die Vorstufe des Noradrenalins Oxytyramin sei.

Bülbring und Burn (1949) gingen folgendermaßen vor. Sie durchströmten eine Hundenebenniere, die rechte oder die linke, 2—3½ Std, reizten während der ersten Stunde dauernd den Splanchnikusnerven und setzten der Durchströmungsflüssigkeit danach Noradrenalin zu. Der Gehalt an Adrenalin und Noradrenalin in der nichtdurchströmten Nebenniere diente als Ausgangswert und die Bilanz nach der Durchströmung ergab dann eine Abnahme an Noradrenalin und eine Zunahme an Adrenalin.

Interessant, aber nicht bewiesen, ist eine Hypothese von Goldberg, Pines, Baldwin, Green und Roh (1948), wonach eine unzureichende Methylierung von Noradrenalin, welches am Menschen stärker als Adrenalin blutdrucksteigernd wirkt, zum Hochdruck führen könne. Weiter weist Holton (1949) darauf hin, daß die krisenartigen Blutdruckanstiege bei Patienten mit Nebennierenmarktumoren auf Ausschüttung von Noradrenalin beruhen könnten. Es ist sicher, daß das Tumorengewebe in den von Holton untersuchten Fällen große Mengen Noradrenalin enthielt. Nicht in allen solchen Fällen steigt der Blutdruck krisenartig; er mag dauernd erhöht sein. Er kann dann wie Goldenberg, Synder und Aranow (1947) gezeigt haben, durch das Dioxanderivat 933F gesenkt werden. Da 933F die Adrenalinblutdrucksteigerung umkehrt, die des Noradrenalins nur abschwächt, sehen diese Autoren in ihrem Resultat ein Beweis für eine Adrenalinausschüttung; es ließe sich aber auch mit Noradrenalinausschüttung erklären.

Es ist heute nicht möglich, die Bedeutung des Noradrenalins für die Nebennierenmarkfunktion eindeutig zu bestimmen. Versuche von Holtz und Schümann (1949) sprechen dafür, daß eine durch Karotissinusentlastung hervorgerufene Nebennierenreizung bei Katzen im wesentlichen Noradrenalin freimacht. Trotzdem läßt sich nicht sagen, daß das Adrenalin als Hormon des Nebennierenmarkes entthront sei. Seine Bedeutung scheint außerdem je nach der Tierart zu variieren. Nach Holtz (1950) enthalten die Nebennieren des Meerschweinchens und des Kaninchens z. B. praktisch nur Adrenalin.

Wie liegt nun die Frage bei den adrenergischen Nerven? Folgende Tatsachen wurden gefunden: Die Wirksamkeit von Milznerven von Rindern beruhte zu über 98% auf dem Noradrenalin; pro Gramm Gewebe wurden 10—15 μg Noradrenalin und weniger als 0,5 μg Adrenalin extraktiert (von Euler, 1946; von Euler und Hamberg, 1948). Bei Reizung der isolierten Nerven wurde das Noradrenalin freigesetzt (von Euler und Aström, 1948). Dieses Überwiegen des Noradrenalins gilt aber anscheinend nicht generell für alle adrenergischen Nerven. Bacq und Fischer (1947) fanden, daß zwar Milzextrakte zahlreicher Tiere nur

Noradrenalin und kein Adrenalin enthielten, die Milznerven und der Grenzstrang aber ein Gemisch von beiden, und die Koronarnerven des Menschen ausschließlich Adrenalin. Danach scheint in einigen Nerven Noradrenalin, in anderen Adrenalin die Hauptrolle als Überträgerstoff zu übernehmen, während in wieder anderen Nerven beide Stoffe wirken. Es wäre interessant zu wissen, ob dieselbe Nervenfaser beide Stoffe freimachen kann, oder ob Nerven ein Gemisch von in dieser Hinsicht verschiedenen Nervenfasern enthalten. Hier liegt noch ein weites Feld, das einer sorgfältigen Bearbeitung bedarf. Gewisse Hinweise haben wir aber schon heute darüber, welche Nerven im wesentlichen durch Noradrenalin, welche durch Adrenalin auf das Erfolgsorgan wirken. Greifen wir auf Cannons Versuche zurück, so können wir sagen, wenn sein sogenanntes Sympathin E im Blut auftrat, reizte er Nerven, die vorwiegend Noradrenalin freimachen, wenn sein sogenanntes Sympathin I auftrat, Nerven die vorwiegend durch Adrenalin wirkten. Nach dieser Einteilung müßten die sympathischen Nerven zur Leber vorwiegend Noradrenalin freimachen und diese Ansicht wurde bereits 1937/38 von verschiedenen amerikanischen Autoren nicht nur ausgesprochen, sondern experimentell gestützt. Stehle und Ellsworth (1937) zeigten, daß Ergotamin die Noradrenalinblutdrucksteigerung nicht in eine Senkung umwandelte. Dasselbe hatten Cannon und Rosenblueth für die Blutdrucksteigerung nach Reizung der Lebernerven gezeigt. Melville (1937) verwandte an Stelle von Ergotamin, Dioxanderivate, die ebenfalls keine Umkehr der durch Noradrenalin oder Reizung der Lebernerven hervorgerufenen Blutdrucksteigerung bewirkten. Die Adrenalinblutdrucksteigerung wurde in all diesen Fällen in eine Senkung umgewandelt. Greer, Pinkston, Baxton und Brannon (1938) zeigten weiter, daß die „Fernreaktionen" des zirkulierenden „Lebersympathins" denen von Noradrenalin und nicht denen von Adrenalin glichen. Diese Übereinstimmung ist durch die neueren Versuche von Gaddum und Goodwin (1947) bestätigt und erweitert worden.

Die Schlußfolgerung, daß die Nerven zur Milz im wesentlichen Noradrenalin als Überträger verwenden, ist nicht nur durch den Befund begründet, daß Noradrenalin die wesentliche sympathikomimetische Substanz dieser Nerven ist. Peart (1949) hat an Katzen gezeigt, daß im Plasma des Milzvenenblutes bei sympathischer Nervenreizung im wesentlichen nur Noradrenalin nachweisbar ist. Adrenalin wurde nur gelegentlich und in kleinen Mengen gefunden. Peart hält es für möglich, daß das Noradrenalin durch Demethylierung entstanden ist, eine Vermutung, die auch Bacq und Fischer (1947) ausgesprochen hatten.

Es sieht so aus, als ob die sympathischen Vasokontriktorenfasern überhaupt generell mehr über Noradrenalin als über Adrenalin wirken, obgleich Unterschiede bei den verschiedenen Tierarten bestehen mögen.

Vleeschhouwer hatte bereits 1935 gezeigt, daß Dioxanderivate in Dosen, die eine Adrenalinumkehr bewirken, die blutdrucksteigernde und gefäßverengernde Wirkung der Sympathikusreizung nur abschwächten oder aufhoben, gleichgültig, ob die Nerven elektrisch oder reflektorisch gereizt wurden, oder ob eine Reizung der sympathischen Ganglien durch Nikotin stattfand. Kürzlich sind ähnliche Versuche von Folkow und Uvnäs und deren Mitarbeitern (1948/49) mit besonders eleganter Versuchstechnik angestellt worden. Sie fanden, daß die durch direkte oder reflektorische Reizung der sympathischen Vasokonstriktoren ausgelöste Gefäßverengerung weder durch Ergotoxin noch durch Dibenamin in eine Erweiterung umgewandelt, sondern nur abgeschwächt wurde. Sie glauben, daß Noradrenalin der alleinige Überträger sympathischer Gefäßnerven ist. In den Fällen, in denen Sympathikusreizung zu einer Gefäßerweiterung führt, soll diese niemals auf Adrenalin beruhen, sondern auf Reizung cholinergischer Fasern. Diese Schlußfolgerung wird von Burn als zu weitgehend angesehen und steht im Widerspruch zu seinen Versuchen mit Bülbring (1936) über sympathische Gefäßerweiterer. Folkow, Frost, Haeger und Uvnäs (1948) nehmen sogar an, daß die Koronargefäßerweiterung auf Reizung des Sympathikus durch cholinergische Fasern herbeigeführt wird. Jedoch übt Noradrenalin nach Versuchen von Burn und Hutcheon (1949) die gleiche koronargefäßerweiternde Wirkung aus wie Adrenalin. Weiter spricht die Tatsache, daß Koronarnerven nur Adrenalin und nicht Noradrenalin enthalten (Bacq und Fischer, 1947) dafür, daß hier adrenergische sympathische Gefäßerweiterer vorliegen. Zu erwähnen ist auch der Befund von Outschoorn (1950), der sogar bei Reizung der sympathischen Fasern zum durchströmten Kaninchenohr, beide Stoffe, Noradrenalin und Adrenalin, in der abströmenden Flüssigkeit nachweisen konnte.

Wenn auch in einzelnen Fragen somit noch keine Übereinstimmung herrscht, so ist es doch sicher, daß dem Noradrenalin für viele sympathische Nervenfasern die entscheidende, wenn nicht sogar die ausschließliche Rolle zukommt. Zu dieser Schlußfolgerung kommen wir heute, 40 Jahre nachdem Barger und Dale (1910) unsere Aufmerksamkeit darauf gelenkt hatten, daß die Wirkung von Noradrenalin der Sympathikuswirkung viel ähnlicher ist als die von Adrenalin.

3. Die enzymatische Zerstörung des Azetylcholins.

Im Jahre 1943 veröffentlichten Mendel, Mundell und Rudney ihre ersten Arbeiten über Azetylcholinzerstörung, denen dann in den nächsten Jahren wertvolle weitere Beiträge folgten. Diesen Arbeiten verdanken wir im wesentlichen die folgenden 4 Fortschritte: 1. Die vorher unter dem Sammelnamen Cholinesterase von Stedman und

Stedman zusammengefaßten Enzyme umfassen 2 verschiedene Enzyme oder besser Enzymgruppen, für die die Namen True- (Echte) und Pseudocholinesterase vorgeschlagen wurden. Die echte Cholinesterase wirkt hauptsächlich auf Cholinester, die pseudo auch auf andere Ester. 2. Das im Körper freiwerdende Azetylcholin wird nur durch die echte Cholinesterase zerstört, die Pseudocholinesterase spielt hierbei keine Rolle. *In vitro* können zwar beide Cholinesterasen das Azetylcholin zerstören, aber beim Vorliegen einer schwachen Azetylcholinlösung ist die pseudo relativ unwirksam, die echte maximal wirksam, da diese Cholinesterase durch hohe Azetylcholinkonzentrationen gehemmt wird. 3. Bestimmte Cholinester werden entweder nur von der pseudo- oder nur von der echten Cholinesterase angegriffen. Mit Hilfe dieser Tatsache konnten die kanadischen Forscher eine Methode ausarbeiten, womit beide Enzyme in einem Gemisch getrennt bestimmt werden können. Azetyl-β-methylcholin diente als Substrat für die echte Cholinesterase; Benzoylcholin für die Pseudocholinesterase. 4. Der Fortschritt der letzten Jahre ist der, daß Gifte, die die Cholinesterasen hemmen, die sogenannten Anticholinesterasen, in 3 Gruppen eingeteilt werden können. a) Solche, die beide Cholinesterasen gleich stark hemmen, wie Eserin und Prostigmin (Hawkins und Mendel, 1946); b) solche, die die Pseudocholinesterase viel stärker hemmen, wie Pyrazolone (Zeller, 1942), Percain (Zeller und Bisegger, 1943), Tri-ortho-cresylphosphat (Mendel und Rudney, 1944), gewisse Kurarepräparate (Harris und Harris, 1944), das Prostigmin Analog Nu 683 (Hawkins und Gunter, 1946), Diisopropylfluorophosphonat (Hawkins und Mendel, 1947), N-Diäthylaminoäthylphenothiazin und 2987 R. P. (Gordon, 1948), und c) solche, die die echte Cholinesterase selektiv hemmen, wie Koffein (Zeller und Bisegger, 1943), „Dichloro-diäthyl-N-methylamin (Thompson, 1946; Adams und Thompson, 1948) sowie das Prostigmin Analog Nu 1250 (Hawkins und Mendel, 1949).

Bereits Alles und Hawes (1940) sowie Richter und Croft (1942) hatten auf das Vorkommen von mehreren Cholinesterasen mit verschiedenen individuellen Eigenschaften hingewiesen. Der Fortschritt von Mendel und seinen Mitarbeitern lag darin, eine einfache Methode gefunden zu haben, um die Unterscheidung durchzuführen und weiter klar festgestellt zu haben, daß für die physiologische Zerstörung des Azetylcholins die echte Cholinesterase maßgebend ist.

Hemmt man in einem Tier z. B. die Pseudocholinesterase ohne die echte unwirksam zu machen, so treten keine auf Azetylcholinanhäufung beruhenden Vergiftungssymptome auf (Hawkins und Gunter, 1946). Umgekehrt, wird die echte Cholinesterase gehemmt, so treten Symptome auf, selbst wenn die Pseudocholinesterase praktisch unvergiftet bleibt (Hawkins und Mendel, 1949).

Kürzlich haben Adams (1949) und Whitaker (1949) gezeigt, daß die Anwesenheit einer Azetylgruppe im Substrat wahrscheinlich die ausschlaggebende Rolle dafür spielt, daß ein Stoff von der echten Cholinesterase gespalten wird. Die Pseudocholinesterase zeigt nicht diese spezifische Gebundenheit zur Azetylgruppe, sondern spaltet besonders stark Buttersäureester.

Wir wissen nicht, welche physiologische Funktion der Pseudocholinesterase zuzuschreiben und was ihr natürliches Substrat ist. Solange diese Frage ungelöst ist, scheint es zwecklos, eine neue Terminologie einzuführen. Solche Versuche sind von mehreren Seiten gemacht worden. Sicherlich ist der Ausdruck Pseudocholinesterase vom biochemischen Standpunkt aus unglücklich gewählt, da die Pseudocholinesterase Cholinester spaltet und das Wort „Pseudo" den Eindruck erwecken könnte, als ob es sich um ein Pseudoenzym handelt. Weiter birgt eine Terminologie, die die Cholinesterasen auf 2 Enzyme beschränkt, eine gewisse Gefahr in sich. Nämlich die, daß wir vergessen, daß es wahrscheinlich 2 große Gruppen mit individuellen Verschiedenheiten und Übergängen gibt und, daß selbst damit das Gebiet nicht ganz erfaßt ist. Zum Beispiel enthalten Nagetiere, welche Benzoesäure entgiften können, in ihren Nieren und Lebern Cholinesterasen, die besonders stark Benzoylcholin hydrolysieren (Nachmansohn und Rothenberg, 1944; Sawyer, 1945; Gunter, 1946; Blaschko, Chou und Wajda, 1947). Für dieses Enzym, oder richtiger Enzymgruppe, schlägt Sawyer den Namen Benzoylcholinesterase vor. Nachmansohn, der vor einigen Jahren die Ausdrücke spezifizierte und nichtspezifizierte Cholinesterase an Stelle von echter und pseudo zu propagieren versuchte, hat kürzlich mit Augustinson (1949) vorgeschlagen, die echte Cholinesterase mit Azetylcholinesterase zu bezeichnen, da Azetylcholin ihr physiologisches Substrat ist. Azetylcholin wird jedoch *in vitro* von beiden Cholinesterasegruppen gespalten, und ein Unterschied besteht nur bei Einhaltung bestimmter Konzentrationen.

Wenn einmal das physiologische Substrat für die Pseudocholinesterase gefunden ist, wird es notwendig werden, sich über eine neue Terminologie zu *einigen*. In der Zwischenzeit scheint mir die von Mendel vorgeschlagene vom physiologischen Gesichtspunkt aus die größten Vorteile zu bieten.

In neuerer Zeit ist das Gebiet der Cholinesterasen biochemisch eingehend untersucht worden; ich gehe hierauf bewußt nicht näher ein, da die Ergebnisse für das Problem der chemischen Nervenübertragung nichts wesentlich Neues beigetragen haben. Uns interessiert vor allem die Frage: sind die pharmakologischen Wirkungen, die wir mit den Anticholinesterasen, wie Eserin, Prostigmin und DFP erhalten, ausschließlich auf Anhäufung von Azetylcholin zurückzuführen? Wir

nehmen an, daß die Anticholinesterasen an denselben Rezeptor im Enzym angreifen wie Azetylcholin. Wenn sie das am Enzym tun, ist es vorstellbar, daß sie es auch am entsprechenden funktionellen Rezeptor der Zelle tun. Es besteht daher die Möglichkeit, von azetylcholinartigen Wirkungen, die unabhängig von der Hemmung der Cholinesterase auftreten. Das trifft z. B. für Prostigmin zu, welches bei arterieller Injektion in einen quergestreiften Muskel eine azetylcholinartige Kontraktion bewirkt, selbst wenn vorher die Cholinesterase gehemmt worden ist (Ricker und Wescoe, 1946). Aber beim Eserin können alle *erregenden* Wirkungen indirekt durch Azetylcholinanhäufung erklärt werden. Anders liegt es mit den hemmenden Wirkungen, die große Dosen von Anticholinesterasen am Muskel, Nerven und im Zentralnervensystem ausüben. Nach Toman, Woodbury und Woodbury (1947) beruht diese Wirkung nicht oder nicht ausschließlich auf Cholinesterasehemmung. Brooks, Ransmeier und Gerard (1949) haben den Einfluß zahlreicher Anticholinesterasen auf das isolierte periphere und zentrale Nervensystem des Frosches untersucht und gefunden, daß diese Stoffe z. B. die Oxydationen hemmen, so daß lähmende Wirkungen auf das Nervensystem nicht immer einfach auf Inaktivierung von Cholinesterase zurückgeführt werden können.

4. Die Synthese von Azetylcholin.*

Wir können diese mit verschiedenen Methoden studieren. Wenn wir Gewebeschnitte oder Gewebebreie inkubieren, geht das Enzym nicht in Lösung über, sondern das Azetylcholin wird in den Zellen bzw. Zelldebris gebildet und dann erst freigesetzt. Unter diesen Versuchsbedingungen muß das Medium Glukose enthalten. Ihre optimale Konzentration ist aber nur etwa 10% der normalen Blutzuckerkonzentration. Diese würde bereits die Bildung bzw. das Freiwerden von Azetylcholin hemmen. Übertragen wir diese *in vitro* erhaltenen Ergebnisse auf die im Körper vorliegenden Bedingungen, so könnte man annehmen, daß die normale Blutzuckerkonzentration eine hemmende Wirkung auf Synthese bzw. Freiwerden von Azetylcholin ausübt. Senkung des Blutzuckerspiegels würde die Glukosehemmung beseitigen. Die Wirkung müßte am Zentralnervensystem dieselbe sein, wie wenn künstlich Azetylcholin auf die motorische Rindengegend gebracht wird. Krämpfe würden auftreten. Die Insulinkrämpfe lassen sich somit durch Azetylcholin erklären. Auch die Hungerkontraktionen könnten in ähnlicher Weise erklärt werden, nämlich durch Wegfallen der „Glukosebremse" auf die Azetylcholinbildung und Freisetzung nicht nur im Zentralnervensystem, sondern auch peripher in der Magendarmwand (Feldberg, 1943, 1945).

* Eine Literaturübersicht über dieses Gebiet findet sich bei Feldberg (1950a).

Es war ein großer Fortschritt, als es NACHMANSOHN und MACHADO (1943) gelang, das Enzym in Lösung zu bringen. Sie arbeiteten mit Gehirnhomogenaten unter anaëroben Bedingungen und zeigten, daß das Enzym Cholin azetyliert, daher der von ihnen gegebene Name *Cholinazetylase*. Sie zeigten weiter, daß hierfür Adenosintriphosphat notwendig ist, so daß dem ATP eine gänzlich neue Funktion, nämlich als Energieüberträger bei der Azetylierung, zugeschrieben werden konnte. ATP übt dieselbe Rolle auch bei der Azetylierung von Sulfonamiden in der Leber aus, wie LIPMANN und KAPLAN (1946) gezeigt haben.

Im einzelnen sind die biochemischen Vorgänge bei der Azetylierung von Cholin noch nicht geklärt. Folgende Befunde sind erwähnenswert: Cholinazetylase ist gegen Azeton unempfindlich und kann daher aus mit Azeton getrockneten Gewebepulvern mit Ringerlösung extrahiert werden (FELDBERG und MANN, 1944/45). Um unter aeroben Bedingungen arbeiten zu können, muß man die Oxydation des Enzyms verhindern. MANN und FELDBERG setzten zu diesem Zwecke Zystein dem Enzymextrakt zu. Das Enzym bedarf eines Aktivitors oder Koenzyms, welches Koenzym A genannt wird und nach LIPMANN, KAPLAN, NOVELLI, TUTTLE und GUIRARD (1947) ein Pantothensäurederivat ist. In gereinigten Enzympräparaten wird die Synthese durch Azetat beschleunigt, wie NACHMANSOHN und WEISS (1948) kürzlich gezeigt haben. In den üblichen aus mit Azeton getrockneten Geweben hergestellten Extrakten hat Azetat diese Wirkung nicht, dafür aber Zitrat. Der Mechanismus der Zitratwirkung ist ungeklärt. Die Tatsache, daß man mit Hilfe von Azeton haltbare Gewebepulver herstellen kann und daß einige Milligramm genügen, um die Synthese zu studieren, ermöglicht es, den Gehalt an Cholinazetylase in kleinsten Gewebsmengen quantitativ vergleichend zu untersuchen.

5. Die Frage eines nichtnervösen Ursprungs des Azetylcholins.

Die menschliche Plazenta enthält große Mengen Azetylcholin, Cholinazetylase und echte Cholinesterase, aber keine Nerven. Mit Nerventätigkeit kann das Azetylcholin also in diesem Organ nichts zu tun haben; was seine Funktion hier ist, das wissen wir aber nicht.

BÜLBRING und BURN (1949b) haben sich mit der Frage beschäftigt, ob dem Azetylcholin auch in anderen Organen eine vom Nervensystem unabhängige Funktion zukomme. Sie denken besonders an rhythmisch tätige Organe. Trypanosomen, die einen hohen Grad an Motilität aufweisen, enthalten Azetylcholin und Cholinazetylase, nicht aber die unbeweglichen Formen von Malariaparasiten im Hühnerblut (BÜLBRING, LOURIE und PARDOE, 1949). ABDON (1949), BURN und VANE (1949) sowie BÜLBRING und BURN (1949) schreiben dem Azetylcholin eine entscheidende Rolle für die Vorhofskontraktionen des Herzens zu. Die

Vorhofstätigkeit kann unter verschiedenen Bedingungen durch Azetylcholin angeregt werden (Burn und Vane, 1949; Bülbring und Burn, 1949b). Zum Beispiel 24—36 Std nach Einbringen in Tyrodelösung hört ein Präparat des Kaninchenvorhofes zu schlagen auf. Durch kleine Dosen Azetylcholin kann es wieder zum Schlagen gebracht werden. Weiter fanden Bülbring und Burn, daß Extrakte von mit Azeton getrockneten Vorhöfen, von frischen oder zum Schlagen gebrachten Herzen, mehr Azetylcholin bildeten als Extrakte von stillstehenden Vorhöfen. Könnten diese Befunde vielleicht ein Zeichen dafür sein, daß dem Azetylcholin eine Funktion bei der Herzmuskeltätigkeit zukommt? In dieser Richtung bewegen sich die Gedanken der Oxforder Forscher, und Burn (1950) hat hierüber kürzlich zusammenfassend berichtet. Die Theorie ist zur Zeit noch vage und nicht zwingend; wesentlich ist, daß sie die Möglichkeit eines nichtnervösen Azetylcholinstoffwechsels in den Vordergrund der Betrachtungen stellt.

Ich selber habe mich in den letzten Jahren mit Dr. Lin mit dem Freiwerden von Azetylcholin in der Magendarmwand beschäftigt (1949; 1950). Sie wissen, daß vor etwa 30 Jahren Weiland, LeHeux und Magnus das Freiwerden großer Mengen von Cholin aus der Darmwand beschrieben und Cholin als Hormon der Darmbewegungen bezeichneten. Als Ursprungsstätte galten die Nervenzellen des Auerbachschen und Meissnerschen Plexus. Später wurde gezeigt, daß Azetylcholin ebenfalls frei wird. Sind die Nervenzellen wirklich die Ursprungsstätte für die beiden Stoffe? Das Cholin soll z. B. aus dem Lezithin abgespalten werden (Abderhalden und Paffrat, 1926; Kahlson, 1933).

Lin und ich haben folgendes untersucht: Einmal die Wirkung von Kokain auf das Freiwerden von Azetylcholin und zweitens die Verteilung von Cholinazetylase in der Darmwand. Die Resultate sprachen in beiden Fällen gegen die Nervenzellen als Ursprungsstätte des Azetylcholins.

Durchströmt man ein Stück Kaninchendarm von der Arterie aus mit eserinhaltiger Lösung, so tritt in der abfließenden Flüssigkeit Azetylcholin auf, selbst wenn die Durchströmungsflüssigkeit Kokain 1:1000 enthält. Das ist eine viel stärkere Konzentration als die, die zum Ausschalten der Nerventätigkeit in der Darmwand notwendig ist. Am durchströmten sympathischen Ganglion verhindert bereits eine 10fach schwächere Kokainkonzentration das Freiwerden von Azetylcholin auf präganglionäre Nervenreizung.

Die Dünndarmwand läßt sich leicht in 5 Schichten trennen. Die Mucosa in einen drüsigen Anteil und in die dicke Muscularis Mucosa. Darunter eine bindegewebige Membran, die Submucosa, die sich leicht *in toto* abtrennen läßt, und dann nach außen zu die beiden Muskellagen die Ring- und Längsmuskelschicht. Die Nervenzellen des Auerbachschen

Plexus sollen beim Abtrennen der Längsmuskelschicht an dieser hängen bleiben. Die Zellen des Meissnerschen Plexus sollen in der Submucosa liegen, aber wir wissen nicht, ob sie an ihr oder an der Muscularis Mucosa hängenbleiben, wenn die beiden Lagen voneinander getrennt werden. Wie dem auch sei, die Submucosa war die einzige Schicht, die keine Cholinazetylase enthielt. Alle anderen enthielten das Enzym, und zwar die nervenzellfreie Glandularis Mucosa gab die höchsten Werte.

Um eine genaue Vorstellung von der Verteilung des Enzyms zu erhalten, ist es notwendig, auch die Dicke der verschiedenen Lagen mit in Betracht zu ziehen. Zum Beispiel enthält die Längsmuskelschicht pro Gramm Gewebe teilweise mehr Azetylcholin, als die Ringmuskelschicht, sein Anteil am Gesamtcholinazetylasegehalt der Darmwand ist aber kleiner, da die Schicht so dünn ist. Noch ein Punkt ist zu berücksichtigen. Selbst wenn die Nervenzellen nicht das Enzym enthalten, so bleiben damit noch die Nervenfasern als Substrat übrig, und diese sind in allen Lagen vorhanden. Eine gewisse Parallelität zwischen Dichte der Nervenzellen und Fasern kann aber wohl angenommen werden.

Für die Magendarmwand des Meerschweinchens liegen Daten von Irwin (1931) über die Dichte der Nervenzellen in der Muskelschicht vor. Diese können mit der Cholinazetylasekonzentration verglichen werden. Beide Zellbestandteile zeigen Änderungen in derselben Richtung in den verschiedenen Abschnitten, aber der Parallelismus bricht bei einem quantitativen Vergleich zusammen. Verdoppelung der Nervenzellen kann mit einer 14fachen Vermehrung an Cholinazetylase einhergehen. Es sieht somit so aus, als ob das Azetylcholin und die Cholinazetylase in der Magendarmwand im wesentlichen nicht nervösen Ursprungs sind und wahrscheinlich, wie in der menschlichen Plazenta, mit dem Cholin und Lipoidstoffwechsel in Zusammenhang stehen.

Um die Funktion des freiwerdenden Azetylcholins zu erforschen, beschränken wir uns nicht nur auf das Vorkommen des Azetylcholins und der Cholinazetylase in den Schichten, sondern ziehen die mit Azetylcholin, Eserin und Atropin erhaltenen Ergebnisse mit in Betracht (Literatur siehe bei Feldberg und Lin, 1950). Durch seine Wirkung auf die glatten Muskelfasern erhöht das Azetylcholin Tonus und Motilität und erleichtert dadurch den peristaltischen Reflex. Eine solche motorische Wirkung übt das Azetylcholin auch auf die Muscularis Mucosae aus. Weiter mag es die Zottenbewegungen beeinflussen. Außerdem stellt Azetylcholin einen physiologischen Reiz für die fortlaufende Sekretion der Dünndarmdrüsen dar und beeinflußt möglicherweise auch die Resorption.

Es besteht noch eine weitere Möglichkeit, nämlich eine Wirkung auf die Nervenzellen selber. Nach dieser Ansicht wären diese in einem Medium eingebettet, das dauernd einen physiologischen Reiz, Azetyl-

cholin erhält. Dieses ist eine vollkommene Umkehrung der früheren Anschauungen. Wenn man die Azetylcholinkontraktionen am Dünndarmpräparat des Meerschweinchens untersucht, so kann man zeigen, daß Lähmung der Nervenzellen eine schwache Reduktion der Kontraktionen bewirkt (Feldberg, 1950b). Zu diesen Versuchen kann man nicht die lähmenden Wirkungen von Nikotin anwenden, da dadurch die Erregbarkeit der Muskelfasern auch herabgesetzt wird. Kurare gibt ebenfalls unzuverlässige Resultate, da es anscheinend eine atropinartige Wirkung hat. Am eindeutigsten sind die Resultate mit Hexamethonium, einem neuen, von Paton und Zaimis (1949) untersuchten Stoff, der autonome Ganglionzellen spezifisch hemmt.

6. Spielt Azetylcholin eine Rolle bei der Fortleitung der Nervenerregung?

Nach Nachmansohn soll Azetylcholin für die Fortleitung der Nerven- und Muskelerregung verantwortlich sein. Über diese Hypothese sagte Dale auf der Tagung der Britischen Assoziation (1948), sie zeichne sich dadurch aus, daß eindeutige Beweise fehlen. Und ihre Anhänger müssen ihre Erfindungsgabe aufs äußerste anstrengen, um glaubwürdige Auswege für die der Theorie widersprechenden Tatsachen zu finden.

Die Hypothese, über die Nachmansohn (1948) mehrfach zusammenfassend berichtet hat, basiert im wesentlichen auf 2 Befunden: 1. das Vorkommen von Cholinestern im Nervengewebe und 2. Hemmung der Nervenleitung durch Anticholinesterasen in starker Konzentration. Die Methoden, die für die Erforschung der Rolle des Azetylcholins bei der Übertragung am Nervenende üblich sind, lassen sich nicht auf diesen Fall anwenden, da das Freiwerden und Entfernen des Azetylcholins innerhalb der Nervenstrecke als intrazelluläre Vorgänge angesehen werden. Es wird angenommen, daß die Nervenleitung aufgehoben wird, sobald die Cholinesterase im Nerven über 90% gehemmt ist. Um eine Aufhebung der Nervenleitung zu erhalten, müssen die Anticholinesterasen jedoch teilweise in Konzentrationen von 1:3—500 gegeben werden. Dies wird damit erklärt, daß die Stoffe lipoidunlöslich sind und nicht ins Nerveninnere eindringen. Da die Anticholinesterasen in hohen Konzentrationen aber, wie erwähnt, Zelloxydationen im Nervengewebe hemmen, ist es zweifelhaft, ob die Wirkung überhaupt auf Inaktivierung der Cholinesterase beruht. Kokain übt z. B. die gleiche Wirkung aus. Der Parallelismus zwischen Cholinesterasehemmung und Aufhebung der Nervenleitung ist nicht überzeugend.

Nerven können durch zahlreiche Mittel leicht erregt werden; Azetylcholin gehört aber nicht dazu (Toman, Woodbury and Woodbury 1947). In hohen Konzentrationen kann es zwar sensorische Nervenendigungen erregen, sonst ist die einzige Wirkung, die es auf die Nervenfaser ausübt, eine Hemmung, und diese ist nicht eine Azetylcholinwirkung,

sondern eine Wirkung der abgespaltenen Essigsäure, denn nach Eserin tritt sie nicht auf (Lorente de No, 1947).

Wir müssen uns klar sein, daß für die Hypothese von Nachmansohn alle gefundenen Unterschiede im Azetylcholin und Cholinazetylasegehalt der verschiedenen Nervenarten gleichgültig sind. Pro Gramm Gewebe enthalten cholinergische Nerven mehrere μg Azetylcholin, sensible Nerven nach Brecht und Corsten (1942) nur Spuren, z. B. zwischen 0,004 und 0,009 μg. Diese tausendfachen Unterschiede manifestieren sich nicht in der Nervenerregungsfortleitung. Hollinshead und Sawyer (1945) haben weiter gezeigt, daß sogar die echte Cholinesterase nur in ganz geringen Mengen in hinteren Wurzeln (Katze) enthalten ist. Nachmansohn versucht an 1 oder 2 Beispielen einen Parallelismus zwischen bioelektrischen Erscheinungen und Azetylcholinstoffwechsel zur Unterstützung seiner Hypothese heranzuziehen; versucht man aber den Parallelismus zu erweitern, so bricht er zusammen. Es kann nicht genügend betont werden, daß, wenn man die Azetylcholinhypothese der Nervenleitung erörtern will, man kein Recht hat, sich auf die Daten und Befunde, die an cholinergischen Nerven erhalten wurden, zu berufen, da diese ja hierfür gleichgültig sind und nur mit der Übertragung vom Nervenende zum Erfolgsorgan in Zusammenhang stehen, sondern man muß die Verhältnisse, wie sie in sensiblen Nerven vorherrschen, als Grundlage benutzen. Dann aber sieht man, daß für die Hypothese der Nervenleitung durch Azetylcholin keine gesicherte experimentelle Grundlage besteht.

Das Vorkommen großer Mengen Azetylcholin in cholinergischen Nervenfasern war der Ausgangspunkt der Hypothese. Wir sehen jedoch, diese Tatsache ist für die Hypothese ohne Belang. Und es ist eigentlich nicht schwer zu verstehen, warum Azetylcholin, wenn es an der Nervenendigung als Überträger wirkt, auf der ganzen Nervenstrecke cholinergischer Nerven vorkommt. Histochemisch ist die Nervenendigung keine von dem Nervenaxon abweichende Struktur. Will man es paradox ausdrücken, kann man sagen, die Nervenendigung existiert nicht; der Nerv hört nur auf. Es ist also zu erwarten, daß die histochemischen Eigenschaften der Nervenendigung mit denen der Faser übereinstimmen.

7. Die Wirkung von Azetylcholin auf die motorische Endplatte und neuromuskulärer Block.

Zwei Versuchsreihen haben unsere Vorstellungen über die Veränderungen, die an der motorischen Endplatte bei Nervenreizung und künstlicher Applizierung von Azetylcholin auftreten, erweitert: Untersuchungen von Kuffler (1943) an isolierten Froschmuskelfasern und die Anwendung von Kurare.

Kuffler brachte eine isolierte Sartoriusmuskelfaser in ein Ringerbad, das mit flüssigem Paraffin bedeckt war, und hob dann die Faser in die Ringer-Paraffingrenzschicht. Zur Registrierung der elektrischen Veränderungen wurde eine Elektrode an das Ende der Muskelfaser gebracht. Als zweite Elektrode diente ein Platindraht, der in den Haken eines Glasstabes eingeschmolzen war. In den Haken war gleichzeitig ein kleinster Azetylcholintropfen eingehängt. Wird der Azetylcholintropfen mit Hilfe einer Mikrometeranode an die Endplattengegend gebracht, so wird diese depolarisiert. Mit schwachen Konzentrationen ist dies die einzige Wirkung; mit höheren Konzentrationen gibt die Depolarisierung Anlaß zu propagierten Aktionsströmen. Nur die Endplattengegend ist empfindlich für Azetylcholin; andere Gegenden antworten auf 1000fach höhere Dosen nur mit einer lokalen Kontraktur. Wenn man Kurare anwendet, kann man die propagierten Aktionsströme verhindern und kann selbst am ganzen Muskel die Endplattenströme leicht nachweisen. Kurare wirkt, indem es die Depolarisierung so abschwächt, daß sie für Reizung der Muskelfaser unzureichend bleibt.

Die Anwendung von Kurare (Eccles und O'Connor, 1939; Eccles, Katz und Kuffler, 1941) hat es außerordentlich leicht gemacht, Endplattenströme zu demonstrieren. Wir können den Vorteil ermessen, wenn wir an die Schwierigkeiten zurückdenken, die Goepfert und Schaefer (1937) hatten, als sie als erste Endplattenströme nachwiesen.

Azetylcholin hat 3 Wirkungen auf quergestreifte Muskeln: Es bewirkt Kontraktion, Kontraktur und Depression, und alle 3 Wirkungen sind die Folge einer Depolarisierung. Kurzanhaltende Depolarisierung führt zum besprochenen Motorendplattenpotential, das die Kontraktion auslöst. Große Dosen von Azetylcholin, oder kleinere nach Eserin, bewirken Kontraktion gefolgt von Lähmung. Die Lähmung wird manchmal als kurareartige Wirkung bezeichnet. Sie ist hervorgerufen durch Depolarisierung der Muskelmembran jenseits der Endplatte. Eine solche Depolarisierung stellt einen Zustand dar, in welchem die Stelle elektrisch unerregbar ist. Das heißt, der Nervimpuls kann nicht passieren und wir haben das Bild des neuromuskulären Blocks. Kürzlich haben Burns und Paton (1950) diese sich von der Endplatte auf die Muskelfaser erstreckende Depolarisierung direkt am Katzengrazilismuskel nachgewiesen. Am normal innervierten Warmblütlermuskel ist dieser Block die einzig sichtbare Erscheinung. Am Kaltblütlermuskel geht eine Depolarisierung der Muskelmembran mit Kontraktur einher. Das charakteristische Zeichen der Kontraktur, die Ausdruck einer Depolarisierung ist, ist seine elektrische Unerregbarkeit und die Tatsache, daß der Verkürzungszustand nicht fortgeleitet wird.

Der neuromuskuläre Block, der durch große Dosen von Azetylcholin ausgelöst wird, ist also ein ganz anderes Phänomen als die Kurare-

lähmung. Kurare macht die Endplatte gegen die depolarisierende Wirkung des Azetylcholins weniger empfindlich. Azetylcholin depolarisiert die Muskelfaser jenseits der Endplatte. Wir wissen, daß beim Menschen die muskelkontrahierenden Wirkungen des Azetylcholins bei arterieller Injektion verhältnismäßig gering sind, und daß die Hauptwirkung in einer vorübergehenden Lähmung besteht (Battro und Lanari, 1937; Harvey, Lilienthal und Talbot, 1941; Wilson und Stoner, 1947; Acheson, Langohr und Stanbury, 1948). Beim Menschen beherrscht die Depolarisierung der Muskelfaser bei dieser unphysiologischen Applizierung des Azetylcholins das Symptomenbild.

Ein azetylcholinartiger Stoff, der keine muskarinartigen Wirkungen auf Drüsen und glatte Muskelfasern hätte, und dessen Wirkung nicht flüchtig wäre, wäre somit ein wirksamer Stoff, um neuromuskulären Block hervorzurufen, und könnte Kurare ersetzen. Paton und Zaimis (1949) haben im Dekamethonium einen solchen Stoff gefunden. Klinisch ist das Symptomenbild der Dekamethonium und Kurarevergiftung sehr ähnlich, mit dem einzigen Unterschied, daß die Atemmuskeln durch Dekamethonium weniger in Mitleidenschaft gezogen werden als durch Kurare (Paton und Zaimis, 1950). Der Wirkungsmechanismus des neuromuskulären Blockes aber ist fundamental verschieden. Dekamethonium depolarisiert die Faser jenseits der Endplatte. Dieses haben Burns und Paton (1950) direkt nachgewiesen. Im Gegensatz zum Kurare bewirkt Dekamethonium am Froschmuskel, wie Azetylcholin, eine Kontraktur. Ein weiterer charakteristischer und verständlicher Unterschied ist der, daß Eserin, das Antidot der Kurarelähmung, die Dekamethoniumlähmung verstärkt.

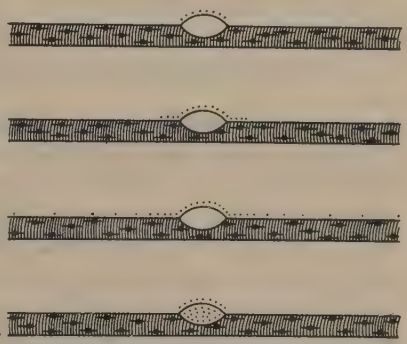


Abb. 2. Schematische Darstellung der depolarisierenden Wirkung von Azetylcholin an der motorischen Endplatte. (a) Physiologische Wirkung des Azetylcholins beim Freiwerden durch Nervenerregung. (b und c) Ausbreitung der Depolarisierung auf die Muskelfaser, wenn das Azetylcholin nicht gleich zerstört wird. Die Ausbreitung erklärt den neuro-muskulären Block und die Kontraktur. (d) Illustriert eine andere Möglichkeit, um den Block zu erklären, nämlich durch Dauerdepolarisierung der Endplatte.

Neuromuskulärer Block ist somit nicht immer kurareartig und eine Übereinkunft über eine terminologische Unterteilung scheint angebracht, um so mehr, als neuromuskulärer Block noch in wieder anderer Weise hervorgebracht werden kann.

Burgen, Dickens und Zatman (1949) haben gezeigt, daß Botulinus-Toxin irreversiblen neuromuskulären Block hervorruft, ohne auf die

Endplatte oder auf die Muskelfaser zu wirken. Während des Blockes bewirkt künstliche Applizierung von Azetylcholin Muskelkontraktionen. Weiter ist auch die Fortleitung der Nervenerregung nicht gestört. Das Toxin greift am markfreien Nervenende an und verhindert das Freiwerden von Azetylcholin.

Im Kurare, Dekamethonium und Botulinus-Toxin haben wir 3 Mittel, um in verschiedener Weise neuromuskulären Block hervorzurufen. Kurare macht die Endplatte gegen Azetylcholin unempfindlicher. Dekamethonium depolarisiert Endplatte und Muskelfaser. Botulinus-Toxin verhindert das Freiwerden von Azetylcholin an der Nervenendigung.

8. Die Rolle von Azetylcholin im Zentralnervensystem.*

Es gibt kaum einen einfacheren Versuch als den, Azetylcholin im Zentralnervensystem nachzuweisen. Man nimmt z. B. das Gehirn eines Meerschweinchens, verreibt es mit verdünnter Salzsäure, kocht das Gemisch, filtriert und neutralisiert. Die Lösung enthält dann Azetylcholin. Die Frage, welche Rolle das Azetylcholin hier spielt, ist aber nicht definitiv beantwortet. Heute, glaube ich, ist die Frage nicht mehr, ob Azetylcholin der universelle zentrale Überträgerstoff ist, sondern an welchen zentralen Synapsen er diese Rolle spielt und wie die Erregung an den anderen Synapsen übertragen wird, für die Azetylcholin nicht in Frage kommt.

In den letzten 10 Jahren sind zahlreiche erregende und hemmende zentrale Wirkungen des Azetylcholins beschrieben worden und dasselbe gilt für Eserin. Diese Befunde im einzelnen zu referieren würde zu weit führen.

Die Schwierigkeit, die Rolle des Azetylcholins im Zentralnervensystem zu erforschen, liegt darin, daß die im peripheren Nervensystem üblichen Methoden sich nur bis zu einem gewissen Grade auf das Zentralnervensystem übertragen lassen. Ich will mich auf 2 neuere Versuchsergebnisse beschränken: 1. Versuche über Änderungen im Azetylcholingehalt in Abhängigkeit von der Tätigkeit des Zentralnervensystems und 2. Untersuchungen über Azetylcholinsynthese.

Das im Zentralnervensystem freiwerdende Azetylcholin wird so schnell zerstört und neugebildet, daß man mit den früheren Methoden der Extrahierung keine einwandfreien Änderungen in seinem Azetylcholingehalt nachweisen konnte. Um dieses zu erreichen muß das Gehirn anscheinend äußerst schnell fixiert werden. Dann spiegelt der Azetylcholingehalt nach Richter und Crossland (1949) den beim Tode stattgefundenen Zustand funktioneller Hirntätigkeit wieder.

* Zusammenfassung der Literatur siehe bei Feldberg (1945, 1950c).

Richter und Crossland gingen so vor, daß sie Ratten durch Einbringen in flüssige Luft töteten. Die Ratten wurden entweder im Schlaf oder in der Narkose, im normalen Wachzustand oder während Konvulsionen getötet. Die höchsten Azetylcholinwerte ergaben die Schlaf- und Narkosetiere, die niedrigsten die Krampfratten. Ihre Werte waren nur 25—30%, der Werte von den Schlaf- und Narkoseratten. Der Befund wird damit erklärt, daß bei erhöhter Hirntätigkeit die Neubildung von Azetylcholin dem Freiwerden und seiner Zerstörung nicht Schritt hält und daher nur bei schneller Fixierung nachweisbar ist.

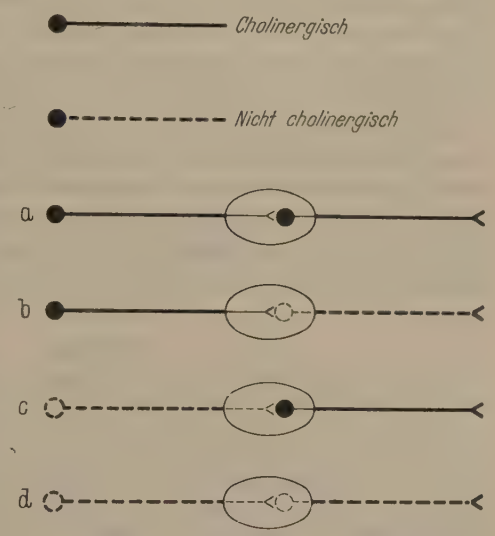


Abb. 3. Die vier Möglichkeiten synaptischer Verbindungen cholinergischer und nicht cholinergischer Neurone im Zentralnervensystem.

Wie bereits erwähnt genügen einige Milligramm Gewebe, um den Cholinazetylasegehalt zu studieren, sofern man das Gewebe erst mit Azeton trocknet. Auf diese Weise konnte an Hunden der Cholinazetylasegehalt in zahlreichen mehr oder weniger wohlbegrenzten Bezirken des Zentralnervensystems bestimmt werden (Feldberg und Vogt, 1948; Feldberg, Harris und Lin, 1950).

Um eine gewisse Ordnung in die Resultate zu bringen war es notwendig folgende Überlegungen anzustellen: 1. Ein Nervenbündel, das aus cholinergischen Fasern besteht, wird hohe Werte zeigen, eins das aus nichtcholinergischen Fasern besteht, niedrige Werte. Mittelwerte bedeuten ein Gemisch beider Faserarten, doch wird der Grad der Myelinierung das Resultat ebenfalls beeinflussen. 2. Bezüglich der grauen Substanzen müssen wir uns klar sein, daß hierfür im wesentlichen nicht die Zellen verantwortlich sind, sondern die Tatsache, daß die Nervenfasern, bevor sie endigen sowie im Anfang, myelinfrei sind. Die hohen Werte in gewissen Teilen der grauen Substanz sind durch die Dichte dieser Fasern bedingt. Unter der Annahme, daß das Zentralnervensystem aus cholinergischen und nichtcholinergischen Neuronen aufgebaut ist, bestehen natürlich 4 Möglichkeiten an den Synapsen (Abb. 3): cholinergisch-cholinergisch; cholinergisch-nichtcholinergisch; nichtcholinergisch-cholinergisch; und nichtcholinergisch-nichtcholinergisch.

In vielen aufsteigenden und absteigenden Nervenwegen lassen sich Hinweise dafür finden, daß ein Abwechseln von cholinergischen und nichtcholinergischen Neuronen stattfindet. Solch eine Anordnung im Aufbau hat etwas sehr Reizvolles, aber eine zu schematische Vorstellung ist gefährlich. Die Alternierung ist nicht überall vorhanden und unter der Annahme von 2 Neuronenarten ist sie aus rein statistischen Gründen schon ein häufig zu erwartendes Vorkommen. Über die Natur der nichtcholinergischen Neurone und deren Überträgerstoffe wissen wir nichts. Hellauer und Umrath (1948) glauben, daß der für die antidrome Gefäßerweiterung verantwortliche Stoff auch der zentrale Überträger am anderen Ende der sensiblen Faser, also im Zentralnervensystem ist, eine Möglichkeit, die bereits Dale (1935) in Betracht gezogen hatte. Dieser Stoff soll enzymatisch zerstört werden und die Zerstörung durch Strychnin gehemmt werden, in Analogie zur Eserinwirkung und enzymatischen Azetylcholinzerstörung. Diese Angaben bedürfen der Bestätigung. Holton und Perry (1950) gelang es nicht, den Verlauf der antidromen Gefäßerweiterung durch Strychnin zu beeinflussen.

Literatur.

Abdon, N. D.: Acta Pharmacol. Toxicol. **1**, 169 (1949). — Acheson, G. H., J. L. Langohr, and J. B. Stanbury: J. clin. Invest. **21**, 439 (1948). — Adams, D. H.: Biochim. et Biophys. Acta **3**, 1 (1949). — Adams, D. H., and R. H. S. Thompson: Biochemic. J. **42**, 170 (1948). — Alles, G. A., and R. C. Hawes: J. of biol. Chem. **133**, 375 (1940). — Auerbach, M. E., and M. E. Angell: Science (Lancaster, Pa.) **109**, 537 (1949). — Augistinsson, K. B., and D. Nachmansohn: J. of biol. Chem. **179**, 543 u. 633 (1949). — Bacq, Z. M.: Arch. internat. Physiol. **36**, 167 (1933). — Bacq, Z. M., and P. Fischer: Arch. internat. Physiol. **54**, 73 (1947). — Barger, G., and H. H. Dale: J. of Physiol. **41**, 19 (1910). — Battro, A., and A. Lanari:, Rev. argent. de Cardiol **3**, 31 (1937). — Bergström, S., von Euler, U. S., u. U. Hamberg: Acta chem. scand. **3**, 305 (1949). — Blaschko, H.: J. of Physiol. **101**, 357 (1942). — Blaschko, H., T. C. Chou, and I. Wajda: Brit. J. Pharmacol. **2**, 108 (1947). — Brecht, K., u. M. Corsten: Pflügers Arch. **245**, 160 (1942). — Brooks, F. B., Ransmeier, R. E., and R. W. Gerard: Amer. J. Physiol. **157**, 299 (1949). — Bülbring, E.: Brit. J. Pharmacol. **4**, 235 (1949). — Bülbring, E., u. J. H. Burn: J. of Physiol. **87**, 254 (1936). — Bülbring, E., and J. H. Burn: Brit. J. Pharmacol. **4**, 202, 245 (1949a). — Bülbring, E., and J. H. Burn: J. of Physiol. **108**, 508 (1949b). — Bülbring, E., E. M. Lourie, and U. Pardoe: Brit. J. Pharmacol. **4**, 290 (1949). — Burgen, A. S. V., F. Dickens, and L. J. Zatman: J. of Physiol. **109**, 10 (1949). — Burn, J. H.: Proc. roy. Soc. Lond. **1950** (im Druck). — Burn, J. H., and D. E. Hutcheon: Brit. J. Pharmacol. **4**, 373 (1949). — Burn. J. H., D. E. Hutcheon, and R. H. Parker: Brit. J. Pharmacol. **5**, 142 (1950). — Burn, J. H., and J. R. Vane: J. of Physiol. **108**, 104 (1949). — Burns, B. D., and W. D. M. Paton: persönliche Mitteilung (1950). — Cannon, W. R., and A. Rosenblueth: Amer. J. Physiol. **104**, 557 (1933). — Dale, H. H.: J. of Physiol. **80**, 10 P (1933). — Dale, H. H.: Nothnagelvorlesung, Kurger Verlag 1935. — Dale, H. H.: La Nature **162**, 558 (1948). — Eccles, J. C., B. Katz, and S. W. Kuffler: J. Neurophysiol. **4**, 362 (1941). — Eccles, J. C., and W. J. O'Connor: J. of Physiol. **97**, 44 (1939). — Emmelin, N., and A. Muren: Acta physiol. scand. (1950)

20, 13. — v. Euler, U. S.: Acta physiol. scand. **11**, 168; **12**, 73 (1946). — J. of Physiol. **105**, 26 P (1946). — v. Euler, U. S.: Acta physiol. scand. **16**, 63 (1948). — v. Euler, U. S., and A. Aström: Acta physiol. scand. **16**, 97 (1948). — v. Euler, U. S., and U. Hamberg: La Nature **163**, 642 (1949). — Feldberg, W.: J. of Physiol. **101**, 432 (1943). — Feldberg, W.: Physiol. Rev. **25**, 596 (1945). — Feldberg, W.: Bd. 3 Methods of Medical Research von V. R. Potter. Year Book, Public. Inc. Chicago 1950. — Feldberg, W.: Proc. roy. Soc. Lond. (1950b) (im Druck). — Feldberg, W.: Brit. med. Bull. (1950c) **6**, 312. — Feldberg, W., O. W. Harris, and R. C. Y. Lin: J. of Physiol. (1950) (im Druck). — Feldberg, W., and R. C. Y. Lin: J. of Physiol. **109**, 475 (1949). — Feldberg, W., and R. C. Y. Lin: J. of Physiol. **111**, 96 (1950). — Feldberg, W., and T. Mann: J. of Physiol. **103**, 28 P; **104**, 8 (1944/45). — Feldberg, W., and M. Vogt: J. of Physiol. **107**, 372 (1948). — Folkow, B., and B. Uvnäs: Acta physiol. scand. **15**, 365 (1948). — Folkow, B., and B. Uvnäs: Acta physiol. scand. **17**, 191 (1949). — Folkow, B., J. Frost, and B. Uvnäs: Acta physiol. scand. **15**, 412 (1948). — Folkow, B., J. Frost, K. Haeger, and B. Uvnäs: Acta physiol. scand. **17**, 197 (1949). — Folkow, B., K. Haeger, and B. Uvnäs: Acta physiol. scand. **15**, 401 (1948). — Gaddum, J. H.: Proc. roy. Soc. Lond. (1950) (im Druck). — Gaddum, J. H., and L. G. Goodwin: J. of Physiol. **105**, 357 (1947). — Gaddum, J. H., and F. Lembeck: Brit. J. Pharmacol. **4**, 401 (1949). — Gaddum, J. H., W. S. Peart, and M. Vogt: J. of Physiol. **108**, 476 (1949). — Goepfert, H., u. H. Schäfer: Pflügers Arch. **239**, 597 (1937). — Goldenberg, M., M. Faber, E. J. Alston, and E. C. Chargoff: Science (Lancaster, Pa.) **109**, 534 (1949). — Goldenberg, M., K. C. Pines, E. de F. Baldwin, D. G. Green, and C. E. Roh: Amer. J. med. Sci. **5**, 792 (1948). — Goldenberg, M., C. H. Synder, and H. Aranow jr.: J. Amer. med. Assoc. **135**, 971 (1947). — Gordon, J. J.: La Nature **162**, 146 (1948). — Greer, C. M., J. D. Pinkston, J. H. Baxter, and E. S. Brannon: J. of Pharmacol. **62**, 189 (1938). — Gunter, J. M.: La Nature **157**, 369 (1946). — Harris, M. M., and R. Harris: Proc. Soc. exper. Biol. N. Y. **56**, 223 (1944). — Harvey, A. M., J. L. Lilienthal jr., and S. A. Talbot: Bull. Hopkins Hosp. **69**, 529 (1941). — Hawkins, R. D., and J. M. Gunter: Biochemic. J. **40**, 192 (1946). — Hawkins, R. D., and B. Mendel: J. cell. comp. Physiol. **27**, 69 (1946). — Hawkins, R. D., and B. Mendel: Brit. J. Pharmacol. **2**, 173 (1947). — Hawkins, R. D., and B. Mendel: Biochemic. J. **44**, 260 (1949). — Hellauer, H. F., u. K. Umrath: Pflügers Arch. **249**, 619, 737 (1948). — Hollinshead, W. H., and C. H. Sawyer: Amer. J. Physiol. **144**, 19 (1945). — Holton, P.: La Nature **163**, 217 (1949). — J. of Physiol. **108**, 525 (1949). — Holton, P., and W. L. M. Perry: J. of Physiol. (1950) (im Druck). — Holtz, P.: Verh. dtsch. physiol. Ges. **1948**. — Holtz, P.: Die Pharmazie **5**, 49 (1950). — Holtz, P., K. Credner, u. G. Kroneberg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 228 (1944). — Holtz, P., u. G. Kroneberg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 150 (1949). — Holtz, P., u. H. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 49, 484 (1949). — Irwin, D. A.: Amer. J. Anat. **49**, 141 (1931). — de Jalon, P. G., J. B. Bayo, and M. G. de Jalon: Farmacoterap. **2**, 313 (1945). — Kahlson, G.: Klin. Wschr. **12**, 1015 (1933). — Kuffler, S. W.: J. Neurophysiol. **6**, 99 (1943). — Lipmann, F., and N. D. Kaplan: J. of biol. Chem. **162**, 743 (1946). — Lipmann, F., N. D. Kaplan, G. D. Novelli, L. C. Tuttle, and B. N. Guirard: J. of biol. Chem. **167**, 868 (1947). — Lorente de No, R.: Studies from the Rockfeller Institute, Vol. **131**, Seite 233 (1947). — Melville, K. J.: J. of Pharmacol. **59**, 317 (1937). — Mendel, B., and D. B. Mundell: Biochemic. J. **37**, 64, 473 (1943). — Mendel, B., and H. Rudney: Biochemic. J. **37**, 59 (1943). — Mendel, B., and H. Rudney: Science (Lancaster, Pa.) **100**, 499 (1944). — Nachmansohn, D.: Bull. Hopkins Hosp. **83**, 463 (1948). — Nachmansohn, D., and A. L. Machado: J. Neurophysiol.

6, 397 (1943). — Nachmansohn, D., and M. A. Rothenberg: Science (Lancaster, Pa.) **100**, 454 (1944). — Nachmansohn, D., and M. S. Weiss: J. of biol. Chem. **172**. 677 (1948). — Outschoorn: zit. nach Gaddum (1950). — Paton, W. D. M., and E. J. Zaimis: Brit. J. Pharmacol. **4**, 381 (1949). — Paton, W. D. M., and E. J, Zaimis: J. of Physiol. (1950) (im Druck). — Peart, W. S.: J. of Physiol. **108**, 491 (1949). — Richter, D., and Croft: Biochemic. J. **36**, 746 (1942). — Richter, D., and J. Crossland: Amer. J. Physiol. **159**, 247 (1949). — Ricker, W. F., and W. C. Wescoe: J. of Pharmacol. **88**, 58 (1946). — Sawyer, C. H.: Science (Lancaster, Pa.) **101**, 385 (1945). – Schümann, J. H.: Klin. Wschr. **26**, 604 (1948). - Stehle, R. L., and H. C. Ellsworth: J. of Pharmacol. **59**, 114 (1937). — Thompson, R. H. S.: J. of Physiol. **105**, 370 (1946). — Toman, J. E. P., J. W. Woodbury and L. A. Woodbury: J. Neurophysiol. **10**, 429 (1947). — Tullar, B. F.: Science (Lancaster, Pa.) **109**, 536 (1949). — de Vleeschhouwer, G.: Arch. internat. Pharmazodynamie **50**, 251 (1935). — Whitacher, V. P.: Abstracts of 1st Internat. Congress of Biochemistry, Cambridge, to page 587 (1949). — Wilson, A., and H. B. Stoner: Quart. J. Med. (New Serie) **16**, 237 (1947). — Zeller, E. A.: Helvet. chim. Acta **25**, 1099 (1942). — Zeller, E. A., and A. Bissegger: Helvet. chim. Acta **26**, 1619 (1943).

Diskussion. Wels: Nachmannsohn und Lederer haben gefunden, daß die Cholinesterase durch SH-Körper aktiviert wird, und vermuten, daß auch in dem Ferment selbst SH-Gruppen die Träger der Wirkung seien, daß also ähnliche Verhältnisse vorlägen wie bei den proteolytischen Fermenten. Wir haben in Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über Strahlenwirkungen die Befunde von N. und L., die an einer Gewebscholinesterase gewonnen worden sind, für die Cholinesterase des Serums nicht bestätigen können. Die Spaltung der Cholinesterase durch Serum wird durch Zystein nicht gefördert, sondern gehemmt. Für die Hemmung sind verhätnismäßig hohe Zysteinkonzentrationen (m/100 bis m/10) notwendig. — Die Abhängigkeit der Fermentaktivität von den Reduktions-Oxydationsgleichgewichten dürfte für die Physiologie der Cholinesterase von allgemeinerem Interesse sein.

Gäbelein: Für die Erklärung der Energieübertragung im Nerv ergibt sich eine neue Möglichkeit, da von Forster beobachtet wurde, daß Fluoreszenzfarbstoffe ihre empfangene Lichtenergie auch in dunkler Übertragung über Abstände von 70 Å Lösungsmittel fast verlustfrei vermitteln können. Diese Befähigung ist an das Vorhandensein der Atomgruppierung: N—C=C—C=N— geknüpft, wobei die Konjugation auch verlängert werden darf. Es überrascht, daß Vitamin B_1 ebenso diese Gruppierung zeigt, sobald an der Brücken-CH_2-Gruppe ein Wasserstoff als Ion abgespalten wird.

Die auffallende Eigenschaft aller nervanregenden Substanzen, N in Reichweite einer Doppelbildung zu besitzen (also alpha- oder beta-Stellung) und damit dieses Prinzip der Energieübertragung teilweise zu wiederholen, ist bezeichnend. Daß nach einer amerikanischen Arbeit die fermentative Verdauung von Eiweiß auch durch eine 200 Å dicke Membran möglich sein soll, ist ebenfalls auffällig, jedoch ist es mir noch nicht bekannt, ob sich diese Beobachtung auch von anderer Seite bestätigen ließ.

Riechert: Im Zusammenhang der nicht immer gleichmäßig auftretenden Wirkungen des Adrenalins in den peripheren Erfolgsorganen, möchte ich auf die Versuche von Dale-Poulssen, Bauer und Richards hinweisen. Geringe Dosen von Adrenalin rufen an der durchströmten Leber bei portaler Applikation eine Verkleinerung des Lebervolumens, Absinken des Pfortaderdruckes und Vermehrung der Durchströmungsmenge hervor. Größere Dosen erhöhen den Pfortaderdruck,

vermehren das Lebervolumen bei gleichzeitiger Durchströmungsbehinderung. Adrenalin, in die Arteria hepatica appliziert, zeigt das gleiche Wirkungsbild wie größere Dosen von Adrenalin in die Vena portae gegeben. Die Wirkung hängt damit wohl einerseits von der Konzentration, andererseits von der Applikationsart ab. Wir müssen uns in diesem Zusammenhange daran erinnern, daß rein physiologisch die Adrenalinsekretion über den Mittler des vegetativen Systems gesteuert wird, also entsprechend der Situation immer die zutreffende Adrenalindosis abgegeben wird. Diese mehr physiologische Dosierung wird bei den meisten experimentellen Untersuchungen über die Adrenalinwirkung nicht eingehalten.

Holtz: 1. Auch die neueren Versuchsergebnisse tragen meines Erachtens zur Verdichtung der von uns schon auf der letzten Tagung entwickelten Vorstellung bei, daß dem Adrenalin vornehmlich die physiologische Funktion des hämatogen zur Wirkung gelangenden „ergotropen" Systemstoffes, des Hormons, zukommt: erhöhtes Minutenvolumen, verringerter peripherer Widerstand, Hyperglykämie, Grundumsatzsteigerung —, dem Arterenol hingegen die vor allem im Bereich des Gefäßsystems sich abspielende Funktion des „Sympathins", des chemischen Überträgers sympathischer Nervenerregungen, wofür u. a. die Vermehrung des Arterenolgehaltes des Harns bei der Hypertonie spricht: vermindertes Minutenvolumen, erhöhter peripherer Widerstand, nur schwache Stoffwechselwirkung. Unter diesen Gesichtspunkten könnten die artspezifischen Unterschiede des Adrenalin-Arterenolgehaltes des Nebennierenmarks vielleicht eine Erklärung in dem verschiedenen physiologischen Gesamthabitus der einzelnen Tierarten finden: Gegenüberstellung der Fluchtreaktion von Kaninchen (nur Adrenalin im Nebennierenmark) und Katze (besonders hoher Arterenolgehalt des Nebennierenmarks).

2. Trotzdem kann auch Arterenol z. B. bei Karotissinusentlastung oder Splanchnikusreizung, von den Nebennieren sezerniert werden. Die physiologische Bedeutung einer hormonalen Ruhe- oder Dauersekretion von Arterenol aus dem Nebennierenmark dürfte, wie die schönen Untersuchungen von Meier und Bein gezeigt haben, in der Ausübung chronisch-statischer Wirkungen zu erblicken sein, auf deren Grundlage Adrenalin dann erst seine akut-dynamischen Kreislaufeffekte auszuüben vermag: die an den Muskelgefäßen angreifende dilatatorische Wirkung kleiner Adrenalindosen, die nach Nebennierenexstirpation in eine vasokonstriktorische umschlägt, läßt sich durch Dauerinfusion „unterschwelliger" Arterenolmengen wiederherstellen. Andere gefäßverengende Stoffe, z. B. Pitressin, waren hierzu nicht in der Lage.

3. Für die Beantwortung der Frage nach der Natur des „Acceleransstoffes" müßten folgende experimentellen Befunde berücksichtigt werden:

1. Arterenol verursacht zwar, wenn es hämatogen zur Wirkung kommt, eine Bradykardie, die auf einer Erhöhung des zentral-reflektorischen Vagustonus des Herzens beruht. Da aber die bradykardische Wirkung durch Atropin nicht nur aufgehoben, sondern in eine tachykardische umgekehrt wird, wurde von uns für möglich gehalten, daß das physiologisch an den Acceleransendigungen frei werdende — lokal, nicht hämatogen wirkende Arterenol eine reine Tachykardie verursacht und deshalb trotz der hämatogen auslösbaren Bradykardie „Acceleransstoff" sein könnte.

2. Demgegenüber lassen unsere Befunde, daß im Herzmuskelextrakt aller Tierarten und des Menschen neben Arterenol zu 10—20% Adrenalin vorhanden ist, die Deutung zu, daß das Adrenalin der Extrakte „Acceleransstoff" war, das Arterenol dagegen „Sympathin" im Bereich der Koronargefäße. Für die Richtigkeit dieser Deutung spräche dann, daß sich beim Frosch, dessen Herz kein Koronargefäßsystem besitzt, nur Adrenalin im Herzextrakt findet.

Tönnies (Freiburg): Der Vortragende hat bereits auf die Lücken hingewiesen, die sich im Bilde der chemischen Theorie für die Reizübertragung im Nervensystem erwiesen haben. Ich möchte darauf hinweisen, daß es unter Neurophysiologen eine große Zahl von Anhängern der sogenannten elektrischen Übertragungstheorie gibt. Bei Rückenmarksreflexen und auch an anderen Stellen des Zentralnervensystems läßt sich im Aktionsstrombild eindeutig nachweisen, daß die afferenten Erregungen nach Latenzzeiten von etwa 0,7 msec synaptisch in mehreren Stufen weitergegeben werden und daß es nach 3 msec möglich ist, den Vorgang einer synaptischen Übertragung an der gleichen Zelle zu wiederholen. Wenn wir beim Sprechen 20 Buchstaben pro Sekunde mit den für jeden einzelnen Buchstaben mehrfachen Lautkomponenten in unseren Sprachorganen innervieren und uns die vielfältigen nervösen Prozesse vorzustellen versuchen, die zur Vorbereitung dieser Sprachinnervation nötig sind, so müssen wir als Hintergrund für diese Aktivität auch synaptische Übertragungen annehmen mit einer Latenzzeit von unter 1 msec. Die elektrische Übertragungstheorie besagt, daß die Einwirkung der Aktionsströme der präsynaptischen Fasern auf die rezeptiven Elemente der synaptisch zu erregenden Zelle das wirksame Agens der Übertragung darstellt. Nachdem für die Fortleitung der nervösen Erregung in den Nervenfasern auf der Basis der Strömchentheorie elementare und physikalisch gut definierte Beweise vorliegen, darf man der synaptischen Übertragung durch elektrische Kräfte, die sich in die Tatsachen der beobachteten Latenzzeiten sehr gut einordnen läßt, einige Überzeugungskraft beimessen. Wir können uns schwer vorstellen, daß in weniger als $^1/_{1000}$ sec komplizierte Moleküle in präziser Dosierung gebildet und funktionell nutzbar gemacht werden sollen und nach weiteren 2 msec bereits wieder umgebaut sein sollen. Vor diesem Hörerkreis wird die Frage naheliegend sein: „Handelt es sich nicht in beiden Fällen um die Umlagerung von elektrischen Ladungen?".

Diese Frage könnte man vielleicht so abgrenzen, daß die chemische Theorie die Bildung und Übertragung von ganzen Molekülen annimmt, während die elektrische Übertragung nur Ionen oder Elektronen zu bewegen hätte. — Es wäre weiter hinzuzufügen, daß für die Funktion des vegetativen Nervensystems die Wirkung des ACH als Übertragungsmittel sehr viel eher zugegeben werden kann. An vegetativen Ganglien konnten die besten Beweise für ACH-Wirkungen und Ausschüttungen erbracht werden. Die an diesen vorhandene langsamere Wirkung der synaptischen Übertragungen und die Tatsache, daß es im vegetativen Nervensystem vielfältige andere chemisch arbeitende reizrezeptive Wirkungen gibt, bieten grundsätzliche Unterschiede gegen die rasche und vielseitig modifizierbare Funktion des sensorisch-motorischen Systems und der Großhirnrinde, wofür eine elektrische Übertragung von vielen bevorzugt wird.

C. Demonstrationen.

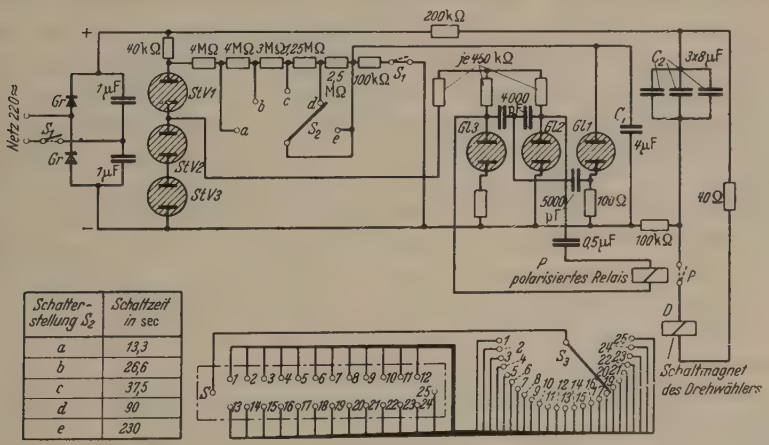
Staab und Staab-Hardt (Heidelberg): Flammenphotometer zur gleichzeitigen Schnellbestimmung von Kalium und Natrium in biologischem Material.

Das Gerät ist so eingerichtet, daß mit kleinen Änderungen auch andere Elemente, zum Teil gleichzeitig, quantitativ nachgewiesen werden können. Großer Wert ist auf beste Druckkonstanz der Verbrennungsgase und auf einfache Kontrollorgane gelegt.

K. Soehring (Hamburg): Ein neuer Schrittschalter für das pharmakologische Laboratorium.

Mit 1 Textabbildung.

Zur automatischen Auslösung rhythmisch wiederholter Vorgänge, wie sie bei der Auswertung von Antagonisten vegetativer Erregungsstoffe usw. im pharmakologischen Laboratorium häufig sind, hat Schild zuerst das Prinzip des Telefonwählers verwendet. In Zusammenarbeit mit K. Müller wurde hierauf aufbauend ein Mehrzweckegerät ent-



Schalterstellung S_2	Schaltzeit in sec
a	13,3
b	26,6
c	37,5
d	90
e	230

wickelt, das die Zeitsteuerung nicht auf mechanischem Wege, sondern durch Entladung von Kondensatoren bekannter Aufladungszeit ermöglicht. Das Gerät steuert z. B. rhythmisch wiederholte Badwechsel für isolierte Organpräparate usw. automatisch über jede beliebige Dauer. Der schon von Schild erörterte Vorteil, daß bei einer solchen Anordnung nicht nur die einwirkenden Konzentrationen, sondern auch die Ein-

wirkungs*zeiten* in einer bisher nicht erreichten Exaktheit konstant gehalten werden können, kommt bei diesem Gerät voll zur Geltung. Das nebenstehende Schaltbild gibt die Anordnung schematisch wieder*.

H. Genuit (Hamm): Neukonstruktion eines Ordinatenschreibers (gleichzeitig ein Universalgetriebe für Laborgeräte).

Ein Grammophonlaufwerk setzt über ein Getriebe einen Topfmagneten in Umdrehung. Dieser nimmt einen Schreibhebel mit, der an seinem Ende eine in einer Geradführung laufende Schreibspitze bewegt. Das 6stufige Schwenkradgetriebe erlaubt Untersetzungen von 1:1; 1:2; 1:4; 1:10; 1:20; 1:40. Umschaltung auch während des Laufes durch nur einen Drehknopf. Geringe Belastung des Auslösungskontaktes durch Benutzung einer Verstärkerröhre, die so geschaltet ist, daß die Unterbrechung jeweils $^1/_{10}$ sec dauert und von der Dauer des Kontaktschlusses bzw. Öffnung unabhänig ist. Der Ordinatenschreiber arbeitet fast geräuschlos und sowohl in vertikaler wie in horizontaler Lage, — also auch vor einem optischen Kymo.

Zwei Achsen des Getriebes, deren schnellste Umlaufszeiten 80/min und 5/min betragen, können durch das Getriebe in ob. Verhältnis untersetzt werden und als Antrieb für Laborgeräte benutzt werden.

W. Wilbrandt (Bern): Demonstration eines Druckverstärkers.

Es wird ein pneumatischer Druckverstärker demonstriert, mit dem einerseits kleine Drucke verstärkt, andererseits Drucke mit geringer Volumverschiebung registriert werden können. Prinzip und Ausführung sind publiziert in den Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta, Band 5, Seite 272, 1947.

* Eine ausführliche Veröffentlichung gemeinsam mit K. Müller ist in Vorbereitung.

D. Einzelvorträge.

Walter Rummel und F. Bruns (Düsseldorf): Zur Frage nach den Zusammenhängen zwischen Stoffwechsel und Permeabilität.

Der Zuckerstoffwechsel liefert die Energien zur Aufrechterhaltung der eigentümlichen, den physiologischen Zustand des Erythrozyten kennzeichnenden Salzverteilung. Dieser Schluß wurde aus früheren Versuchen mit der Urethanhämolyse gezogen, die durch Zystein im p_H-Bereich von 7,4 gehemmt und unterhalb 6,5 gefördert wurde. Diese Wirkungsumkehr in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration wurde als Charakteristikum dafür angesehen, daß das Zystein als Redoxsystem wirkt.

Die gleiche Wirkung wurde jetzt durch Messung eines empfindlicheren Kriteriums, des Kaliumaustritts, bestätigt: 0,34 mol Äthylurethan führen bei 37° und p_H 7,4 in einer Stunde zu einem Kaliumverlust von 13 mg%, der durch 0,0065 mol Zystein-HCl (80 mg%) um mehr als die Hälfte vermindert wird. Im p_H-Bereich von 5,8 ist auch hier der Effekt umgekehrt: Zystein in Gegenwart von Urethan verdoppelt die pro Zeiteinheit ausgetretene Kaliummenge gegenüber dem Ansatz mit Urethan allein, wo die Erythrozyten 5 mg% Kalium in einer Stunde verlieren.

Um etwaige Zusammenhänge zwischen Permeabilität und Stoffwechsel sehen zu können, mußte zunächst die Frage beantwortet werden: Welche Stoffwechseländerungen bewirkt das Zystein und wo greift es dabei an? Die Antwort des Experimentes lautete: 0,0065 mol Zystein steigern den O_2-Verbrauch von Erythrozyten um mehrere 100%, die Milchsäurebildung wird gleichzeitig bis zu 50% gehemmt und eine Synthese von organischem Phosphat setzt ein, wobei bis zu 20 mg% P in 2 Std verschwinden. Die Antwort für den zweiten Teil der Frage lag auf der Hand, nachdem früher schon nachgewiesen war, daß diese Wirkungen von der Intaktheit der Struktur abhängen. Es mußten die metabolischen Prozesse um das Hexose-6-Phosphat sein. Die Kodehydrase II, das Triphosphopyridinnukleotid, mit seinem „Zwischenferment" und dem gelben Atmungsferment kam als Angriffspunkt für das Zystein damit in engste Wahl. Aus Versuchen von Meldrun und Tarr mit dem isolierten Fermentpräparat, die unter anderem Gesichtswinkel entstanden und deshalb anders ausgewertet wurden, konnte in einem Fall eine Aktivierung dieses Systems durch Zystein um mehrere 100% errechnet werden, ein Effekt, wie er am intakten Erythrozyten auch gefunden wurde. Damit war der Wirkort eigentlich bereits festgelegt, so daß durch den Nachweis, daß Zystein auch noch nach Zer-

störung der Struktur die Oxydation aktiviert, wenn Hexose-6-Phosphat als Substrat zugegeben wird, nur ein übriges hinzugefügt werden konnte.

Schließlich blieb noch die Frage: Ist diese Stoffwechselaktivierung durch Zystein auch noch in Gegenwart von Urethan möglich? Tatsächlich wird trotz einer Urethankonzentration von 0,34 mol, die den Sauerstoffverbrauch um durchschnittlich 50% hemmt, der O_2-Verbrauch noch um über 100% der Norm gesteigert. Die früher gegebene Deutung, daß Zystein die Urethanhämolyse durch Aufrechterhalten des Stoffwechsels eine gewisse Zeit hinausschiebt, blieb also plausibel.

Die Zuordnung der Resultate der Stoffwechselmessungen und der Permeabilitätsmessungen ergibt: bei p_H 7,4 entspricht einer Steigerung der Atmung durch Zystein eine Hemmung des Kaliumaustritts. Die ursprünglich angenommenen energetischen Zusammenhänge scheinen damit bewiesen. Darüber hinaus erlaubt die Aktivierung der Synthese organischen Phosphats an energiereiche Phosphatverbindungen zu denken und an die Carrier-Funktion der Phosphorylierungen in der Membran, die die Grundlage der thermodynamisch klar durchdachten Rosenbergschen Theorie sind.

Sobald jedoch die Verhältnisse im p_H-Bereich unter 6,5 in Betracht gezogen werden zeigt sich, daß unsere Anschauung in der ursprünglichen Form nicht richtig ist. Konsequenterweise müßte Zystein mit Urethan den Stoffwechsel stärker hemmen als Urethan allein. Aber die Messungen des O_2-Verbrauchs und die Phosphatmessungen bleiben stumm auf die Frage nach einem stoffwechselmäßigen Korrelat zu jener merkwürdigen Tatsache der Wirkungsumkehr, so daß wir auch schwerlich die Rosenbergsche Theorie zur Erklärung dieses Befundes zu Rate ziehen können.

Die Gesamtheit der Erscheinungen geschlossen zu erklären wird im Anschluß an die Theorie von Flexner, Friedenwald und Stiehler versucht. Entscheidend erscheint hierbei Differenz und Gefälle zwischen dem Redoxpotential der Membran und dem des Milieus. Demnach wäre dann für den Fall der Betrachtung das Wesentliche der Oxydationen in der Membran die Aufrechterhaltung eines bestimmten Redoxpotentials.

Diskussion. Schoetensack fragt unter Bezugnahme auf die Untersuchungen von Waldschmidt-Leitz und Albers über die Wirkung von Zystein und Zystin auf die Spaltung von Phosphorsäureestern an, ob die Ursache des veränderten Phosphatstoffwechsels unter Urethan nicht eher auf einer Beeinflussung des Redoxpotentials beruhen könne. Rummel erwidert, daß der gemessenen Zu- bzw. Abnahme anorganischen Phosphats im Gegensatz zu den Untersuchungen an Phosphatasepräparaten Vorgänge zugrunde liegen, die mit der Atmung intakter Zellen zusammenhängen und durch Urethan narkotisierbar sind.

P. Holtz weist auf seine Untersuchungen an Hefezellen hin, bei denen sich eine Vergiftung des Pasteureffektes durch Zystein in Konzentrationen, welche die Atmung noch unbeeinflußt lassen, ergab.

Rummel: Bei Erythrozyten, die von Hause aus schon aerob glykolysieren, bewirkt Zystein eine Hemmung der Milchsäurebildung gleichzeitig mit einer Atmungssteigerung, d. h. es führt zu einem Pasteureffekt. Der Gegensatz liegt wohl im unterschiedlichen Stoffwechseltyp der beiden Objekte begründet.

O. Eichler (Heidelberg): Über den Stoffaustausch durch die Kapillarwände, geprüft mit ^{24}Na.

(Nach Versuchen von Oskar Eichler, Kurt Schmeiser und Ilse Appel.)

Auf dem Cold Spring Harbor Symposion des Jahres 1948 über die biologischen Anwendungen von Tracer-Elementen hat Flexner einen zusammenfassenden Bericht über den Stoffaustausch durch die Kapillarwände gegeben, wobei er als Muster meist das aktive Natriumisotop ^{24}Na verwandte. Er kam zu dem Schluß, daß in jeder Minute 60% des im Blutplasma vorhandenen Natriums durch die Kapillarwände hindurchtrete und es durch die gleiche Menge aus der extravasalen Flüssigkeit ersetzt werde. Eine Unterscheidung beider ist durch die spezifische Aktivität möglich. Er glaubte, die beobachteten Effekte durch die Diffusion als einziger wirkenden Kraft erklären zu können. Dabei würden nicht nur Kittsubstanzen als Wege benutzt, sondern auch die Zellen selbst. Auf die Forderung einer Diffusion kommt er auch durch thermodynamische Überlegungen. Unser Beginnen ist vorerst nicht die Kritik dieser Vorstellung, sondern nur eine Erweiterung unserer Erkenntnisse über den tatsächlichen Stoffaustausch. Das notwendige Na^{24} wurde im Zyklotron aus Mg hergestellt (Schmeiser). Als Leitfaden mußte uns zunächst der von Flexner gebrauchte Ansatz dienen. Nach diesem ist:

$$\frac{d\,N_t}{d\,t} = -r\,\frac{N_t}{\mathrm{Na_{plasma}}} + r\,\frac{N_o - N_t}{\mathrm{Na_{Extravasal}}}.$$

Mit r = die gesamten mg Na, die die Kapillarwände in irgendeiner Richtung durchdringen.

N_t Aktivität zur Zeit t. N_o = Gesamtaktivität, die injiziert wurde.

$\mathrm{Na_{pl}}$ bzw. $\mathrm{Na_E}$ die Gesamtmenge des Na im Plasma bzw. der extravasalen Flüssigkeit.

Wir legen dabei auf die Faktoren $\frac{N_o - N_t}{\mathrm{Na_E}}$ Wert. Das bedeutet die spezifische Aktivität, die sich außerhalb der Gefäße zu einer Zeit t nach der Injektion vorfindet. Es ist dabei vorausgesetzt, daß ein Ausgleich extravasal rasch eintritt. $\frac{r}{\mathrm{Na_{pl}}} = R$ ist die Proportion von Na des Plasma, das die Kapillaren verläßt.

Nach Integration der Gleichung erhält man eine einfache Exponentialfunktion, $C_t - C$ Gleichgewicht auf semilogarithmischem Papier aufgetragen, beim Meerschweinchen eine gerade Linie, die Mensch und Hund (hier eine zusammengesetzte Exponentialfunktion) aber erst nach

3 min in eine gerade Linie übergeht. Als Beispiele führen wir 3 Versuche mit verschiedenem Befund des Kreislaufs an.

1. Steigerung des Blutdrucks ergab eine Beschleunigung des Absinkens. Es handelt sich nicht um die Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge und der Diffusionsfläche, wie die Geigyblauräume zeigen.

2. Durch Rhodan und Ery- bzw. Hb-Gehalt bestimmtes Verhalten der extrazellulären Räume, wie er durch Lösungen mit kolloidosmotisch verschiedenem Druck aus Periston oder Dextran herbeigeführt wird. Nach einer Phase der verzögerten Konzentrationsabnahme infolge Einströmens von Flüssigkeit in die Blutbahn folgt eine Vermehrung. Diese ist begleitet von einer Verschiebung von Flüssigkeit aus dem Blutgefäßsystem in die extravasalen Räume.

3. Ein normaler Verlauf zeigt die Kurven von Flexner.

In einer zweiten Versuchsserie wurde der Grad der Durchmischung im Plasma durch Geigyblau mit dem Verhalten des ^{24}Na verglichen. Dabei errechneten wir, wie groß die extrazelluläre Konzentration sein müsse.

Aus dem Plasmavolumen wurde die zugängliche extravasale Flüssigkeit als Prozentsatz des Endresultates erhalten.

Der tatsächliche Verlust des Plasma pro Minute muß abnehmen, jedoch korrigierten wir die Kurve aus den im extrazellulären Plasma gegebenen Konzentrationen entsprechend dem Flexnerschen Term $\frac{N_o - N_t}{Na_E}$. Dabei wählten wir den in der ersten Minute erhaltenen Verlust als Größe von R, die konstant bleiben müßte. Die Kurve sinkt aber trotzdem und behält keinen konstanten Wert. Man kann den Verlauf auf 2 Weisen rechnerisch ausgleichen.

1. Man wählt R variabel mit der Zeit. Das kann vom Kreislaufzustand abhängen.

2. Man fragt sich, welche Konzentration extravasal notwendig ist, damit der unmittelbar beobachtete Effekt erscheint. Das ist die effektive Konzentration, die stets oberhalb der errechneten verläuft. Die Konzentration muß also in der Nähe der Kapillaren stets höher sein als im weiteren Abstand, womit der obige Ansatz einer Korrektur bedarf.

Das Ungleichgewicht ist auch zu ersehen, wenn eine Dextranzufuhr im Ungleichgewicht stattfand. Rechnet man die Konzentration der durch das hypertone Dextran angezogenen Flüssigkeit aus und vergleicht sie mit dem Wert, der am Beginn der Infusion vorlag, dann reicht diese Konzentration zur Erklärung des Effektes nicht aus. Sie muß größer sein, also wiederum: Ungleichgewicht.

Bei einem Versuch, bei dem die Kolloidlösung bei vollem Gleichgewicht der Na-Verteilung zugesetzt wurde, ließ sich ausrechnen, daß durch die Attraktion der nach der Rechnung zu erwartenden Lösung

die Änderung der Konzentration allein daraus gedeckt werden konnte. Annahme einer Diffusion mit dem Flexner-Faktor $R = 0{,}6$ führte zu unmöglichen Werten. Es gibt also Situationen, wo die Diffusion, deren Wirksamkeit niemand bestreiten kann, völlig vor aktiven Bewegungen von Flüssigkeit zurücktritt. Man muß beachten, daß der Bereich der aktiv angezogenen Flüssigkeit laut Rechnung bei diesem Versuch 0,29 μ betrug.

Nach Zufuhr einer 17,5% Lösung von Kollidon kam es bei Steigerung des Blutdrucks zu einer Filtration, einer Einengung der Geigyblauräume entsprechend. Wir beobachteten die Zunahme der Flüssigkeiten bei den einzelnen Testsubstanzen. Wir sehen, daß die Räume für die Ery langsamer anstiegen als die Geigyblauräume. Das ist ein Zeichen, daß zahlreiche Kapillaren vorhanden sind, die vorerst für kursierende Blutkörperchen geschlossen sind, wie man es im Kapillarmikroskop sehen kann. Diese Räume werden im Verlauf von 20 min durch Kollidon geöffnet. Die ^{24}Na zugänglichen Flüssigkeiten nehmen nicht mehr zu, als die in den Gefäßen befindlichen, also muß die Zunahme schließlich aus den Zellen stammen. Es gibt keine Phase, während der die extravasalen Flüssigkeiten vermindert sind. Durch die Blutdrucksteigerung ist sie sogar vorübergehend vermehrt. Vielleicht, daß dieser Effekt die Zwischenphase verdeckt.

Als letztes machen wir auf das Absinken der Na-Räume gegen Ende des Versuchs zugleich mit dem Rückgang des Plasmavolumens aufmerksam. Wo bleibt diese Flüssigkeit? Wo bleibt das ^{24}Na? In dieser Phase entwickelte sich ein Lungenödem, bei der Sektion erwies es sich als nicht sehr ausgedehnt. Die Ödemflüssigkeit, aus der Nase laufend, hatte aber nur ein Viertel der Aktivität des Plasmas. Wahrscheinlich sind hier Drüsen am Werk, die zuerst das an sich inaktive Na ausstoßen, dabei nur Flüssigkeit aus dem Blut nachholen, und das Na mit der höheren spezifischen Aktivität später aus dem Plasma aufnehmen.

Zusammenfassend stellen wir fest, daß man zur Erklärung der Phänomene auf die Filtration neben der Diffusion nicht verzichten kann. Ob der eingeschlagene Weg auch die Kapillarendothelien benutzt, darüber möchten wir uns noch nicht äußern. Insgesamt sehen wir auch neue Möglichkeiten zur Prüfung des Kreislaufzustandes.

O. Eichler (Heidelberg): Über die Aufnahme von Ortho- und Pyrophosphat durch die Herzmuskelzelle, geprüft mit dem radioaktiven Phosphorisotop ^{32}P. (Nach Versuchen von O. Eichler u. K. Schmeiser.)

Für die Aufnahme von Orthophosphat in die Zelle liegen vor allem die Untersuchungen von Sacks vor, nach denen primär ein Einbau in Hexose-6-Phosphat stattfindet, bevor Phosphat in die Zelle, auch die

Muskelzelle des Herzens, eintritt. Uns lag zunächst an dem Nachweis der Eindringungsgeschwindigkeit des Phosphats und Pyrophosphats, damit die in früheren Versuchen am Froschherzen über die Struktur der Herzmuskelfaseroberfläche abgeleiteten Schlüsse eine exakte Stütze erhielten. Als Korrelat zu den Versuchen von Sacks verfolgten wir das Verschwinden von Phosphat aus der Kanüle in ein überlebendes Froschherz. Das ist wegen der Genauigkeit der Methode an demselben Herzen möglich. Das ^{32}P isolierten wir uns selbst nach Neutronenbeschuß im Heidelberger Zyklotron (Schmeiser) aus Schwefelkohlenstoff, um eine möglichst hohe spezifische Aktivität zu sichern.

Wir verfolgten die Speicherung, wenn in die Froschherzkanüle 0,184 γ P einerseits als Ortho- dann als Pyrophosphat eingeführt werden (Durchschnitte von je 6 bzw. 4 Herzen). Beim PO_4 erfolgte die Aufnahme bei 25° rascher als bei 5°. Dieser Unterschied weist auf einen aktiven Prozeß hin. Der Temperaturkoeffizient (versuchsweise nach Reaktionskonstanten erster Ordnung gerechnet) hat die Größe 1,66 beim Übergang von 5° auf 25°, ist also für eine chemische Reaktion sehr klein, wenn man die Resultate von Wilbrandt an Erythrozyten dagegenhält. Das Resultat mag als Resultante weiterer Modi der Aufnahme erklärbar sein. Diesen chemischen Mechanismus finden wir bei höheren Konzentrationen nicht wieder, da seine Kapazität offenbar beschränkt ist, so daß er die Konzentration nicht mehr über die statistische Schwankung zu ändern vermag. Die Kurven erhalten dann denselben Typ wie Pyrophosphat auf dem Diapositiv. Dieses Anion wird mehrfach rascher bis zu einem Gleichgewicht aufgenommen als Phosphat. Das Gleichgewicht kann nur ein vorübergehendes sein, da das Anion, durch die Phosphatase der Oberfläche gespalten, dem Aufnahmemechanismus des Phosphats zugänglich ist.

Insgesamt aber lassen sich bei Phosphat auch Gleichgewichte in Abhängigkeit von der Endkonzentration in der Kanüle feststellen. Die Gesamtheit der Versuche kann nicht aus einer Diffusion in das Innere der Zelle erklärt werden, da sonst die Aufnahme von ^{32}P bei abnehmender spezifischer Aktivität schwächer, aber nicht stärker werden sollte. Es handelt sich um einen Prozeß der Adsorption an der Herzoberfläche. In kleinen Konzentrationen erhalten wir eine Gerade, wie es nach der Langmuirschen Isotherme zu erwarten ist. Später biegt die Kurve scharf um. Ein Versuch der theoretischen Durchdringung führte zu dem Resultate, daß eine Annäherung möglich ist durch die Annahme, daß eine Anzahl von reagierenden Punkten an der Oberfläche lokalisiert sind, die mit je einem Molekül PO_4 reagieren.

Im Gleichgewicht ergibt sich die sehr viel größere Affinität des Pyrophosphats zur Herzmuskeloberfläche. Das zeigt sich auch in den Reaktionskonstanten, die man versuchsweise erster Ordnung ohne Annahme

eines Gleichgewichts ausrechnen kann. Die etwa 10fach raschere Reaktion des Pyrophosphats ergibt sich durch die im Gleichgewicht weit stärkere Bindung, diese wiederum aus der kleineren Dissoziationskonstanten. Dieser Verlauf ist auch ein Zeichen dafür, daß der Durchmischungseffekt insgesamt nur untergeordnete Bedeutung besitzt. Eine Schädigung des Herzens bedeutet eine vermehrte Aufnahme. Sie erfolgt durch Azidität, Hypotonie und vorübergehende Anoxämie. Die Aufnahmegeschwindigkeit nimmt ab nach Beseitigung der Anoxämie, allerdings noch einige Zeit nachdauernd. Die Schädigung zeigt sich im übrigen auch in einer vorübergehenden Verminderung der Herzaktion, also vermehrte Aufnahme trotz veränderter Zirkulation in den Spalten des Herzens. Da die aktive Aufnahme, wie wir sie nach Sacks in einer Bindung als Hexose-6-Phosphat annehmen können, sicherlich nicht durch Schädigung, z. B. Anoxämie zunehmen, sondern eher abnehmen wird, sehen wir hier einen zweiten Mechanismus wirksam werden, der nach Ussing in „exchange diffusion" bestehen könnte.

Beim Pyrophosphat sehen wir, wie die Aktivität nach einem vorübergehenden scharfen Abfall steigt. Pyrophosphat wurde also in die Kanüle wieder abgegeben. Das ist ein Zeichen dafür, daß es bei der ersten Reaktion nicht in dem Innern des Herzens verschwunden ist, sonst würde es nicht wiederkehren. Wir erklären das damit, daß der Komplexbildner Pyrophosphat sich an Cu-Molekülen der Herzoberfläche verankert und diese dann gelöst hat, wie es schon durch uns bei höheren Konzentrationen von Komplexbildnern durch chemische Isolierung bewiesen wurde. Die Kurve würde die Herauslösung von etwa 0,048 γ Cu bedeuten, eine Größe, die nach unseren früheren Versuchen durchaus plausibel ist.

O. Eichler (Heidelberg): Über die Aufnahme von sauren Farbstoffen durch das isolierte Froschherz. (Nach Versuchen von Oskar Eichler, Richard Schütze und Ilse Appel.)

Als Farbstoffe verwandten wir Kongorot, Brillantkongo R und Alkali Echtgrün. Diese Farbstoffe wurden in der Konzentration von 0,0025 bis 0,025 % in der Kanüle verwandt. Nach einem vorübergehenden, anscheinenden Gleichgewicht schließt sich ein sekundärer Anstieg an. Dieser ist beweisend dafür, daß der Farbstoff an der Oberfläche bleibt. Der sekundäre Anstieg wurde auch beim nichtlebenden Objekt beobachtet und vor allem von Brunauer untersucht. Er bezieht ihn darauf, daß eine zweite Schicht sich an der ersten anlagert, die durch dieselben van der Waalsschen Kräfte gehalten wird, wie die erste Lage. Die Schicht kann so dick werden, daß sie das leckende Herz dichtet. Sie kann sichtbar gemacht werden besonders leicht bei Kongorot, weil es schön dunkelrot fluoresziert.

Alkali-Echtgrün wird bei 0,0025—0,005% kaum aufgenommen, die bei den anderen Farbstoffen schon eine exzessive Steigerung zeigen. Aber auch hier erzwingt man denselben Verlauf durch Erhöhung des Angebotes. Dann lassen sich die feinen grünen Säume an den Zellgrenzen beobachten.

Wenn das Herz während der Präparation geschädigt wurde, gibt es sekundäre Farbstoffverschiebungen, so daß eine Aufnahme in das Zellinnere vorgetäuscht wird. Vor allem färben sich die Zellkerne an.

Bei Schädigung des Herzens mit sichtbar verminderter Aktion wird die Farbstoffaufnahme schwächer, weil die Durchmischung leidet, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Phosphat, wo die Einengung der zugänglichen Oberfläche durch zusätzliche Effekte weit kompensiert wird.

G. Zetler (Kiel): Über den Unterschied zwischen Rausch und Vollnarkose.

Der Unterschied zwischen dem sogenannten Rausch und der Vollnarkose ist bisher noch nicht genügend geklärt, die Lehrbücher, sowie die Fachliteratur geben darüber keine befriedigende Auskunft. Als Rausch definiert man einen rasch vorübergehenden narkotischen Zustand, der durch ein Überangebot an Narkotikum erreicht wird, für wenige Minuten Analgesie und Toleranz bewirkt und in ebenso kurzer Zeit wieder abklingt. Durchweg wird der Rausch als kurze Narkose bezeichnet, die physikalischen Eigenschaften der Inhalationsanästhetika sollen eine entscheidende Rolle spielen. Die Verfechter dieser Theorie lassen dabei die Tatsache ungeklärt, daß mit Chloräthyl und Äther trotz gleichbleibender Eigenschaften der Stoffe beide Narkosearten durchführbar sind. Sogar mit Chloroform kann man im Tierversuch einen typischen Rausch erzeugen, indem man chloroformgesättigte Ringerlösung schnell intravenös injiziert; auch hierbei kommt es in ganz kurzer Zeit zum Toleranzstadium sowie zum raschen Erwachen. Es muß also weniger an den physikalischen Eigenschaften der verschiedenen Inhalationsanästhetika als vielmehr an der Art und Weise der Applikation liegen, ob ein Rausch oder eine Vollnarkose entsteht. Das rasche Zustandekommen des Toleranzstadiums beim Rausch erklärt sich zwanglos aus dem überfallartigen, kurzzeitigen Angebot exzessiver Narkotikumdosen, nicht jedoch ist damit das schnelle Erwachen zu erklären. Hier liegt das Problem. Denn da sowohl im Rausch als auch in der Vollnarkose im Großhirn gleiche Narkotikummengen vorhanden sein dürften, da ja der gleiche Lähmungszustand erreicht ist, müßte das Erwachen gleich schnell vor sich gehen.

Die von uns vorgenommenen Versuche gründen sich auf folgende theoretische Überlegungen: Beim Rausch sind wegen der schnellen Zu-

fuhr des Narkotikums die schlechter durchbluteten Körpergewebe im Gegensatz zum gut durchbluteten Gehirn noch relativ frei von Narkotikum, das in diesem Falle nach dem Absetzen der Maske das Gehirn auf zwei Wegen verlassen kann: nämlich sowohl über die Abatmung durch die Lunge als auch über die Aufnahme in die Gewebe; nach dem Ende der Vollnarkose ist dagegen nicht nur der Austritt des Narkotikums vom Gehirn in die gesättigten Gewebe unmöglich, vielmehr strömt in diesem Falle das Narkotikum außer vom Gehirn her auch aus den Geweben ins Blut, wodurch die Entfernung des Anästhetikums aus dem Gehirn noch weiter verzögert wird.

Diese Behauptung mußte sich experimentell beweisen lassen vor allem durch die Untersuchung des Narkotikumgehaltes des Blutes beim Aufwachen aus dem Rausch oder aus der Narkose. Wir verwandten bei unseren Versuchen Chloräthyl und konnten mittels einer für unsere Zwecke abgewandelten Widmarkschen Blut-Alkohol-Bestimmungsmethode die Chloräthylmengen im Blute hinreichend genau erfassen. Dabei zeigte sich, daß bei Mensch und Hund auf der Höhe des Rausches im Mittel 0,056‰ Chloräthyl im venösen Blute vorhanden sind, eine recht kleine Menge, die aus dem Rest von Narkotikum besteht, den die Gewebe beim Passieren des Blutes nicht aufnahmen. Nach 2 min und bei einem Blutwerte von 0,02‰ erfolgte bei Mensch und Hund das Erwachen. 5—9 min nach Beendigung des Rausches war kein Narkotikum mehr im Blute nachweisbar. Nach einstündiger Chloräthylnarkose fanden wir beim Hund doppelt so hohe Werte bei Beendigung der Narkose im Venenblut, nämlich 0,107‰; das Erwachen erfolgte nach etwa 14 min, und zwar bei 0,04‰, einem Werte, bei dem beim Rausch noch Toleranz besteht. Auf dieser Höhe blieb nun der Chloräthylspiegel im Blute noch mindestens 10 min lang, obwohl das Erwachen weitere Fortschritte machte. Dieses Ergebnis: Erwachen trotz Rauschkonzentration im Blute, verzögertes Absinken des Blutspiegels trotz zunehmenden Wachzustandes erlaubt eine Deutung im Sinne unserer Theorie.

Wenn die bisher dargestellten Gedankengänge richtige waren, mußte ein experimentum crucis möglich sein. Es müßte nämlich ein Versuchstier erwachen, wenn es auf der Höhe des Chloräthylrausches sofort in eine Atmosphäre gebracht wird, die die Konzentration an Chloräthylgas enthält, die zur Aufrechterhaltung der Vollnarkose nötig ist. Normalerweise dauert es mindestens 1½ Std, bis ein Tier durch das Angebot dieser narkotischen Konzentration voll narkotisiert ist. Wäre nun der Rausch lediglich eine recht kurze normale Narkose, so dürfte ein im Rausch liegendes Tier bei diesem Versuch nicht erwachen, da ja die Voraussetzungen für ein Andauern der Narkose gegeben sind. Ein Tier jedoch, das sich seit längerer Zeit in Vollnarkose befindet, darf bei Verbringen in die narkotische Atmosphäre nicht erwachen.

Diese Versuche führten wir an Meerschweinchen durch. Aus dem Chloräthylrausch erwachten 10 Tiere in der Luft nach 1 min 46 sec. 5 Tiere wurden sofort nach Eintritt des Rauschtoleranzstadiums in eine Atmopshäre mit 5,3 Vol% Chloräthylgas gebracht. Sie erwachten nach 2 min 34 sec. Bei weiteren 5 Tieren führten wir eine Chloräthylvollnarkose von 45 min Dauer durch; nach Verbringen in die Chloräthylgasatmosphäre von 5,3 Vol.% waren die Tiere nach 15 min noch nicht erwacht.

Damit scheint es klar zu sein, daß der Rausch nicht lediglich eine kurze Narkose ist, sondern daß zwischen den beiden Betäubungsarten grundlegende Unterschiede im Anreicherungs- und Ausscheidungsgeschehen bestehen.

D. Reinwein (Kiel): Kinetik der Reaktionen von Phenylhydroxylamin mit Blutfarbstoff.

Die Geschwindigkeit der Hämiglobinbildung durch die Reaktion von Phenylhydroxylamin und Hämoglobin mit Sauerstoff wurde optisch gemessen. Sie ist der Konzentration des Hämoglobins und Phenylhydroxylamins proportional. Für 20° C, p_H 6,8 und 155 Torr Sauerstoff ist die Geschwindigkeitskonstante $K = 500$. Der Temperaturkoeffizient der Reaktionsgeschwindigkeit ist $Q_{10} = 1{,}9$. Wasserstoffionen hemmen die Reaktion; sie läuft bei p_H 5 etwa halb so schnell wie bei p_H 8.

Die (von I. Reinwein untersuchte) Reduktion des Hämiglobins durch Phenylhydroxylamin verläuft bei niedrigen Hämiglobinkonzentrationen langsamer als die Hämiglobinbildung durch Phenylhydroxylamin und Sauerstoff. Ihre Geschwindigkeit ist der Phenylhydroxylaminkonzentration und $[Hb^{III}]^{1,7}$ proportional. Daher erreicht sie zwar bei den hohen Blutfarbstoffkonzentrationen innerhalb der roten Zellen Geschwindigkeiten, die die Hämiglobinbildung meßbar verlangsamen, aber nicht in verdünnten Blutfarbstofflösungen. Infolge der Häm-Häm-Beeinflussung innerhalb der Blutfarbstoffmolekel begünstigt die partielle Hämiglobinbildung sogar die Oxydation der weiteren Häme.

H. Dannenberg (Kiel): Reduktion von Nitrosobenzol in roten Zellen.

Als Oxydationsprodukt des Phenylhydroxylamins wurde Nitrosobenzol in roten Zellen mit optischen und manometrischen Methoden nachgewiesen. Demnach verläuft im Kreisprozeß der Hämiglobinbildung in roten Zellen durch Phenylhydroxylamin-Nitrosobenzol die Oxydation des Phenylhydroxylamins und Hämoglobins durch Sauerstoff zu Hämiglobin und Nitrosobenzol schneller als dessen enzymatische Reduktion zu Phenylhydroxylamin.

Die enzymatische Reduktion des Nitrosobenzols wurde ebenfalls optisch gemessen. Die Anfangsgeschwindigkeit der Reduktion stimmte mit der aus der Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme und Hämiglobinbildung im Kreisprozeß errechenbaren überein. Die enzymatische Reduktion des Nitrosobenzols begrenzt also die Geschwindigkeit des Kreisprozesses. Als Reduktionsprodukt des Nitrosobenzols wurde Phenylhydroxylamin durch die Bildung von Hämiglobin und Nitrosobenzol bei seiner Reoxydation durch Sauerstoff nachgewiesen.

H. D. Waller (Kiel): Stoffwechselwirkungen von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol in roten Zellen.

Die Unterhaltung des Kreisprozesses Phenylhydroxylamin-Nitrosobenzol, der eine Vielzahl von Äquivalenten Hämoglobin zu Hämiglobin oxydieren kann, erfordert die enzymatische Reduktion des Nitrosobenzols. Diese wird durch das Hämiglobinreduktasesystem durchgeführt.

Der Ablauf des Kreisprozesses ist mit einer starken Vergrößerung der Sauerstoffaufnahme der roten Zellen verbunden. Etwa ein Drittel des Sauerstoffs wird zu Oxydation von Hämoglobin zu Hämiglobin verbraucht, mehr als die Hälfte wird vom Nitrosobenzol auf das Hämiglobinreduktasesystem übertragen und erscheint schließlich als Kohlendioxyd; nur ein kleiner Bruchteil wird in Brenztraubensäure wiedergefunden.

Durch den Kreisprozeß wird der Abbau von Glukose in den roten Zellen beschleunigt. Die zusätzlich verbrauchte Glukose ist quantitativ als Kohlendioxyd und Brenztraubensäure nachzuweisen.

Diskussion. Heubner: Trotz der zahlreichen ausgezeichneten Feststellungen von Kiese und seinen Schülern ist mir noch nicht klar geworden, welche zwingenden Argumente ihre so sicher vertretene Ansicht beweisen, daß im katalytischen Kreisprozeß die Oxydation des Phenylhydroxylamins jedesmal bis zum Nitrosobenzol — also zweistufig — verläuft und nicht schon auf der ersten Stufe (einem Radikal) umkehrt. Messungen der Reaktionsgeschwindigkeit katalytischer Umsetzungen können nach meiner Ansicht in dieser Frage nichts entscheiden.

Robert Vormann, Fritz Hahn und Walter Rummel (Düsseldorf): Untersuchungen am Gewebsstoffwechsel zur Frage der Giftigkeitssteigerung von Pharmaka durch Sulfonamide (Glaubach-Phänomen).

Die interessante Tatsache, daß die pharmakologisch relativ indifferenten Sulfonamide (S. A.) eine Giftigkeitszunahme von Arzneimitteln bewirken können, wurde zuerst von Glaubach für die Kombination Sulfapyridin + Papaverin beschrieben. Mit der dabei erzielten Steigerung der Papaverintoxizität haben sich in der Folge mehrere Autoren beschäftigt. Unter anderen haben Oelkers und Wanowius diesen Effekt

auch durch Kombination des Papaverins mit anderen S. A. erhalten und ferner gezeigt, daß auch Dolantin und Novocain-Adrenalingemische durch gleichzeitige S. A.-Gaben giftiger werden. Dagegen wurde von ihnen eine Giftigkeitszunahme von Morphin, Codein und Narkotin durch S. A. nicht erzielt — im Gegensatz zu den Angaben von Glaubach — bzw. nur in schwachem Maße, wenn die von Glaubach verwendeten unverhältnismäßig hohen Sulfapyridindosen (4—5 g/kg) zur Anwendung kamen. Befriedigende Theorien über die Grundlagen dieses S. A.-Effektes fehlen. Es schien uns im Hinblick auf die pharmakologische Verschiedenartigkeit der in Betracht kommenden Gifte naheliegend, an einen sehr elementaren Mechanismus zu denken. Wir dachten hierbei an die Gewebsatmung, da u. a. Fleisch festgestellt hat, daß die S. A. in vitro den O_2-Verbrauch von Geweben hemmen. Es war daher zu prüfen, inwieweit die durch S. A. in ihrer Wirkung beeinflußten Gifte selbst Oxydationsgifte sind und dadurch die Atmungshemmung durch S. A. verstärken.

An Leber- und Gehirngewebe (als Brei oder Extrakt) von Meerschweinchen, Ratten, Kaninchen und Katzen wurde in der Warburg-Apparatur zunächst die Hemmung des O_2-Verbrauchs durch S. A. (Irgafen, Sulfapyridin, Sulfanilamid) sichergestellt. Mit Meerschweinchenleberextrakten ergab sich eine etwa 15—20%ige Atmungshemmung durch 25—40 mg% S. A. Die Untersuchung verschiedener Alkaloide ergab nun ganz im Sinne unserer Erwartung, daß diejenigen, deren Giftigkeit nach Oelkers und Wanowius durch S. A. gesteigert wird, die Gewebsatmung in pharmakologisch interessanten Konzentrationen hemmen. Ferner ergab sich, daß die wirksamen Alkaloide die Atmungshemmung durch S. A. additiv verstärken. Auffallend stark war die atmungshemmende Wirkung des auch im Glaubach-Versuch stark wirksamen Papaverins. 5 mg% Papaverin hemmten den O_2-Verbrauch von Leberextrakten um etwa 50%. Als niedrigste noch hemmende Konzentrationen wurden 0,1—0,5 mg% gefunden, das sind $^1/_{300000}$—$^1/_{60000}$ molar. In der gleichen Größenordnung sind nur noch HCN und die von Fleckenstein untersuchten Schmerzstoffe wirksam. Untersuchungen über den Mechanismus dieser Papaverinwirkung sind im Gange. Die Atemhemmung durch 40 mg% Irgafen und 1,7 mg% Papaverin, die für jeden Stoff 20% betrug, ergab bei Kombination beider Stoffe eine Hemmung von 40%.

Von Dolantin waren zur 20%igen Hemmung der Atmung etwa 40 mg% nötig. In Kombination mit 40 mg% Sulfapyridin betrug die Hemmung 35%. Novocain war etwa so wirksam wie Dolantin. Dagegen hemmten 60 mg% Morphin den O_2-Verbrauch von Leberextrakten nicht, sie konnten ihn sogar bisweilen etwas steigern. Gleichzeitiger Zusatz von 25 mg% Irgafen ergab nur eine auf das S. A. zurückzuführende Atemhemmung. Auch 50 mg% Codein waren unwirksam und verstärkten

die S. A. -Wirkung nicht. Ebenso verhielt sich Narkotin in der Sättigungskonzentration (etwa 5 mg% bei p_H 8).

Als Stoffwechselgift wurde auch das Chinin untersucht, das eine schwache Minderung des O_2-Verbrauchs mit 40 mg% ergab, welche sich zu der Wirkung von Irgafen addierte. Auch dieser Befund fügt sich in den Rahmen unserer Vorstellungen, da Kleinsorg und Loeser kürzlich über eine gesteigerte Giftigkeit von Chinin durch gleichzeitige Verabfolgung von S. A. (Sulfapyridin) berichteten.

Unsere Befunde stützen also die Vermutung, daß der gesteigerten Toxizität von Papaverin, Dolantin, Novocain und Chinin am Ganztier durch Kombination mit S. A. eine Addition der hemmenden Wirkungen dieser Stoffe auf die Gewebsatmung zugrunde liegt. Damit soll die Möglichkeit nicht geleugnet sein, daß auch spezifische Wirkungen der in Betracht kommenden Pharmaka eine Bedeutung haben können. Diese könnte z. B. für die von Kleinsorg und Loeser mitgeteilte Toxizitätssteigerung von Cardiazol durch S. A. zutreffen. Andererseits ist es nicht ohne Interesse, daß auch Cardiazol, wie wir feststellen konnten, eine hemmende Wirkung auf die Gewebsatmung hat.

Diskussion. Soehring: Die vom Vortragenden auf Novocain bezogene Giftigkeitssteigerung der Sulfonamide besonders im alkalischen Milieu ist deshalb schwer verständlich, weil Novocain unter diesen Bedingungen sehr schnell hydrolysiert wird.

Antwort von Vormann: Die atmungshemmende Wirkung des Novocains war nach etwa 15—20 min beendet.

W. Hennig (Marburg/Lahn): Über einige Änderungen der Phosphataseaktivität des Knochens bei experimenteller Rachitis.

In einer Reihe von Untersuchungen haben sich Verfasser und W. Theopold mit der Wirkung einer komplexen Kalkzitronensäure auf die experimentelle und die menschliche Rachitis befaßt. Diese Kalziumverbindung zeigt unter gewissen Bedingungen prophylaktische und therapeutische Wirkungen, die der des Vitamins D entsprechen. Für die experimentellen Versuche wurden junge Ratten mit rachitogener Kost nach Steenbock-Black (Ca : P = 5:1) zum Teil rachitisch gemacht, zum Teil durch Zulagen von Vitamin D bzw. Kalkzitronensäure zu dieser Diät die Rachitis verhütet.

Ein Vergleich der Wirkungen von Vitamin D und Kalkzitronensäure auf die alkalische Knochenphosphatase ergab bei der histochemischen Darstellung nach Gomori keinen und bei der chemischen Bestimmung nach Jenner und Kay keinen nennenswerten Unterschied. Beim Versuch, beide Methoden zueinander in Beziehung zu bringen, wurde bei der, der histochemischen Färbung vorausgehenden, Entkalkung beob-

achtet, daß nach abgeschlossener Entkalkung im Zitratpuffer (p_H 4,5) eine Abnahme der Phosphataseaktivität erfolgte. Eine Färbung nach Gomori beim — schneller entkalkten — rachitischen Knochen war trotz seiner anfangs wesentlich höheren Phosphataseaktivität schon nach 7 Tagen nicht mehr möglich, als noch Knochen von normal ernährten und von mit Vitamin D bzw. Kalkzitronensäure behandelten Tieren volle Aktivität zeigten. Eine Herauslösung konnte ausgeschlossen werden: aus Verreibungen der Femuri von Tieren der verschiedenen Gruppen mit destilliertem Wasser (1:50) — in dem die alkalische Knochenphosphatase relativ gut löslich ist — nahm zwar die Phosphataseaktivität in den täglich gewechselten Lösungen ab, blieb aber über 12 Tage ihrer jeweiligen Anfangsaktivität proportional, in der Reihenfolge: rachitisch > normal > Vitamin D ≧ Kalkzitronensäure. Am 7. Tag war das Verhältnis rachitisch : Vitamin D bzw. Kalkzitronensäure = 3:1, während es im Zitratpuffer etwa 0:10 war.

Diese Ergebnisse deuten auf Beziehungen zwischen Mineralgehalt des Knochens und seiner Fermentaktivität hin. Die an einer größeren Anzahl Tieren (je 20—25 von etwa 70 g Gewicht) der verschiedenen Kostgruppen vorgenommenen Untersuchungen von je einem Femur auf seinen Mineralgehalt und dem entsprechenden anderen auf die Fermentaktivität ergibt als Durchschnittswerte:

Normaltier . . .	15,0% Ca	7,1% P	60	Bodansky-Einh./g Knochenphosphatase
Rachitisch	12,8% Ca	6,5% P	118	BE/g
Vitamin D	23,0% Ca	14,5% P	34	BE/g
Kalkzitronensäure.	16,6% Ca	10,5% P	23,5	BE/g

Die Phosphataseaktivität ist also dem Gehalt des Knochens an Ca und P umgekehrt proportional.

Das Verhalten des Fermentes bei der Entkalkung gibt nun folgendes Bild: durch den Zitratpuffer wird die Phosphatase solange nicht verändert, als noch Kalzium im Knochen oder dessen Verreibungen vorhanden ist, dann aber sinkt ihre Aktivität rasch ab, beim rachitischen schneller als beim gesunden Knochen. Diese Inaktivierung des Fermentes ist, wie Versuche ergaben, nicht ohne weiteres reversibel, und beruht möglicherweise auf einer Herauslösung des Magnesiumanteils aus der von Roche festgestellten Magnesium-Proteidbindung durch Komplexbildung mit dem Zitratpuffer, nachdem alles Kalzium entfernt ist.

W. Schmid (Tübingen): Gewebsalteration und Gewebsstoffwechsel an der Froschhaut.

Zur weiteren Klärung der bei gewebsschädigenden Einwirkungen eintretenden primären Reaktionen wurden an demselben Objekt die

beobachteten Alterationserscheinungen mit dem Verhalten des Gewebsstoffwechsels verglichen. Die Unterschenkel des lebenden Frosches wurden in Lösungen hautreizender Agentien eingetaucht und nach bestimmten Zeiten zur Prüfung der Reversibilität in destilliertes Wasser überführt. In der schon früher beschriebenen Weise wurde fortlaufend das Verhalten der Gefäße, die Exsudation und die Stärke des Ödems bestimmt. An ausgeschnittenen Hautstücken wurde im WARBURG-Apparat der Sauerstoffverbrauch und die anaerobe Glykolyse gemessen.

Bei voll reversibler Wirkung z. B. unter m/1 Natr. nitrat oder 5% Urethan waren, trotzdem schon nach der ersten halben Stunde Stase, Ödem und Chloridaustritt vorhanden waren, keine Veränderungen im Stoffwechselverhalten nachzuweisen. Bei der irreversiblen Wirkung von 10% Urethan, 5% Chloralhydrat, n/30 Salzsäure, 2% Kupfersulfat, 0,03% Saponin und 0,003% Senföl ergab sich eine mehr oder weniger weitgehende Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs und der Glykolyse, aber erst, wenn sich die Epithelzellen an der Färbbarkeit ihrer Kerne mittels wäßriger Trypanblaulösung als abgestorben erwiesen. (Analog verhielten sich Hefezellen unter Senföl.) Die Stoffwechselhemmung ist somit bei diesen Fällen nicht Ursache, sondern Folge der Gewebsschädigung. Wenn am lebenden Tier der Sauerstoffverbrauch unmittelbar durch lokale Einwirkung von Natr. Zyanid oder durch Abbindung des Beines unterbrochen wurde, dauerte es viele Stunden, ehe erheblichere (noch reversible) Alterationserscheinungen nachzuweisen waren. Es kann daher auch für die oben erwähnten rasch einsetzenden reversiblen „Hautreizungen" eine Hemmung des Sauerstoffverbrauchs nicht verantwortlich sein.

Diskussion. FLECKENSTEIN führt hierzu aus: Unspezifische Gewebsschädigungen brauchen durchaus nicht mit einer Hemmung von Atmung und Glykolyse parallel zu gehen. BROCK, DRUCKREY und HERKEN fanden bei Einwirkung zahlreicher die Zellstruktur unspezifisch schädigender Agentien bekanntlich eine Steigerung der Zelloxydationen und eine aerobe Säurebildung. Andererseits ist kaum mehr ein Zweifel darüber möglich, daß spezifische Entzündungsgifte ihre morphologisch sichtbaren Wirkungen auf Grund einer primären Hemmung des desmolytischen Stoffwechsels ausüben. Die Angriffspunkte dieser Substanzen liegen nach unseren Ergebnissen in den Fermentsystemen der Wasserstoffaktivierung. Noch empfindlicher als die Messung von O_2-Verbrauch und Glykolyse ist die direkte und quantitative Erfassung der Dehydrierungshemmungen unter Verwendung des Triphenyltetrazoliumchlorids.

WELS: Zu den Gewebsalterationen gehören auch die Hemmungen des Wachstums. Dieses ist zwar von den energieliefernden Stoffwechselreaktionen abhängig, das Abhängigkeitsverhältnis ist aber nicht derart, daß jede Wachstumshemmung über die Hemmung des Energiewechsels verursacht wird. Das zeigen die alten Untersuchungen von WARBURG am Seeigelei mit Phenylurethan und unsere Untersuchungen über die Wirkungen der Röntgenstrahlen. Beide Agentien hemmen das Wachstum lange bevor sie die energieliefernden Reaktionen hemmen.

Wilbrandt erörtert den Anteil, den die verschiedenen histologischen Hautelemente an der Gesamtatmung haben können. Es wäre denkbar, daß die Atmung des Epithels so dominiert, daß eine Atmungshemmung an den Kapillarendothelien sich nicht bemerkbar macht.

Bühler: Im Zusammenhang mit den Untersuchungen über Wirkstoffe in der geschädigten Froschhaut ließen sich in Zusammenarbeit mit Dr. Hermelink auch aus der normalen Froschhaut wirksame wäßrige und alkoholische Extrakte gewinnen.

Im pharmakologischen Test zeigen diese gewisse Übereinstimmung mit der Histaminwirkung, unterscheiden sich aber auch in mehrfacher Beziehung davon.

Dem Histamin gleichartig ist die Kontraktionswirkung am Darm von Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen, die Erregung des Meerschweinchenuterus sowie die Blutdrucksenkung bei Katzen und Kaninchen. Am isolierten Meerschweinchenvorhof entfaltet der Extrakt wie Histamin eine mäßige inotrope Wirkung. Während der Rattendarm entsprechend dem Histamin keine Kontraktion erfährt — seine Bewegungen werden eher gehemmt — wird der Rattenuterus im Gegensatz zum Histamin zur Kontraktion gebracht. Ein Hauptunterschied besteht ferner in der Resistenz gegenüber Antistin, wie am Meerschweinchendarm gezeigt werden kann.

Eine Reindarstellung des Wirkstoffs ist bisher nicht gelungen, jedoch konnte mittels Adsorption an Permutit eine Konzentrierung erzielt werden. In Zahlen ausgedrückt besitzt die frische Froschhaut eine Wirksamkeit, die am Meerschweinchendarm der einer 0,1—0,2‰ igen Histaminlösung entspricht. Dieser einem Histamingehalt von 150 pro Gramm Froschhaut entsprechende Wirkungswert ist das Mehrfache von dem, was nach der Literatur an Histamin in tierischen Geweben, auch nach Schädigung, vorkommt. Durch unser Reinigungsverfahren ließ sich ein wasserlösliches Trockenprodukt erhalten, dessen Wirksamkeit einer 10% igen Histaminlösung gleichkommt.

Nach Einwirkung von Hypertonie und ebenso von Senföl auf die Haut in vivo, was zu starker entzündlicher Reizung führte, wurde die Wirksamkeit der Extrakte nicht erhöht gefunden.

Heubner: Mir scheint es erwünscht, für theoretische Fragen nicht solche Reizstoffe heranzuziehen, die relativ vielseitige „Angriffspunkte" haben, also Nerven, Kapillaren und Epithelien in etwa gleichen Grenzkonzentrationen beeinflussen, sondern lieber solche, die sehr elektiv wirken, etwa Cantharidin, dem jede primäre Wirkung am sensiblen Nerven fehlt, oder einen der Pfefferstoffe, deren Wirkung sich sehr weitgehend auf sensible Nerven beschränkt.

W. Riechert (Heidelberg): Beitrag zur Genese des toxischen Lungenödems.

Es gibt eine Reihe von Arzneistoffen, die bei entsprechender toxischer Dosierung im Tierexperiment ein Lungenödem verursachen. Wegen der innigen Beziehung zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung darf man auch von denjenigen Adrenalin-Ephedrin-Körpern, die dem Adrenalin chemisch nahe stehen, die gleiche toxische Wirkung erwarten. So sind in diesem Sinne das Corbasil, das Sympatol und die Base B des Ikorals dem Adrenalin an die Seite zu stellen. Eine wesentliche Toxizitätssteigerung auch im Sinne des Lungenödems läßt

sich bei den Adrenalin-Ephedrin-Körpern vorwiegend beim Adrenalin und Corbasil durch den Zusatz von Kokain erzielen, d. h. diese Pharmaka erzeugen bei gleichzeitiger Kokaingabe ein Lungenödem in einer Dosis, die allein gegeben kein Lungenödem verursacht.

Durch die Untersuchungen von Jarisch wurde das toxische Kardiazol- und Veratrin-Lungenödem bekannt. Das Veratrin muß im Gegensatz zum Kardiazol suboccipital gegeben werden, und bei gleicher Applikationsart rufen auch das Strophanthin und das Aconitin ein toxisches Lungenödem hervor. Es scheint sich beim Veratrin demnach nicht um eine spezifische toxische Wirkung zu handeln, da auch die beiden anderen genannten Pharmaka die gleiche zentrale toxische Eigenschaft aufweisen.

Für die Entstehung des toxischen Adrenalin-Lungenödems macht man neben dem hämodynamischen Faktor die Wirkung des Adrenalins auf die Lungengefäße im Sinne einer Dilatation mitverantwortlich. Diese periphere Funktionsänderung auf die Lungengefäße bildet die Voraussetzung für einen vermehrten Durchtritt von Blutplasma in die Alveolen und nach entsprechenden pharmakologischen Untersuchungen erscheint es berechtigt anzunehmen, daß der Permeabilitätsgrad der Lungengefäße und Lungenalveolen abhängig ist von einem zentralen Einfluß. Zur Prüfung dieses zentralen Faktors stehen experimentell drei Möglichkeiten zur Verfügung, und zwar kann man versuchen:

1. durch Sympathektomie, Splanchnikotomie bzw. Durchtrennung des Halsmarkes den zentralen Einfluß des Sympathikus auf das Erfolgsorgan auszuschalten und

2. durch operative Zerstörung der Regionen im zentralen Nervensystem, in denen man den Sitz solcher übergeordneten vegetativen Zentren vermutet, den Verlauf des toxischen Lungenödems wesentlich zu beeinflussen und

3. durch entsprechend auf vegetative Zentren wirkende Pharmaka wie Narkotika und Hypnotika das toxische Adrenalin-Lungenödem in seinem Grade einzuschränken.

Die von uns angewandte pharmakologische Ausschaltung jeglichen sympathischen Einflusses durch Gynergen auf das Erfolgsorgan (Lunge) ist im Sinne der ersten Möglichkeit zu werten.

Die nach dieser Richtlinie durchgeführten Untersuchungen sprechen durchaus für die Abhängigkeit des Auftretens des toxischen Adrenalin-Lungenödems von einem zentrogenen Faktor. Es ist anzunehmen, daß der Sympathikus den Permeabilitätsgrad der Lungengefäße bestimmt und daß der Einfluß des Vagus dieser permeabilitätsfördernden Wirkung des Sympathikus entgegengesetzt gerichtet ist. Den Beweis für diese Annahme bilden unsere Versuche über das Lungenödem nach doppelseitiger Vagotomie und dessen Auslöschung durch Gynergen.

Von den von uns untersuchten Krampfmitteln wie Kardiazol, Veratrin, Pikrotoxin und Hexeton, Koramin, Kokain, Strychnin hinsichtlich der Bildung eines toxischen Lungenödems rufen nur diejenigen ein solches bei entsprechender toxischer Dosierung hervor, denen auch andere sympathikotrope Wirkungen, gemessen an der hyperglykämischen Reaktion, zukommen. Durch solche Untersuchungen gelingt es, diese Krampfmittel zu differenzieren. Das Kardiazol, Veratrin und Pikrotoxin rufen ein toxisches Lungenödem hervor, welches durch den von uns angewandten Gynergentest völlig ausgelöscht werden kann. Dieses Ergebnis ist als Beweis dafür anzusehen, daß diese Art toxischer Lungenödeme nur über den Sympathikus zustande kommt. Die anderen genannten Krampfmittel zeigen nicht den Befund des toxischen Lungenödems, da ihnen ausgesprochene sympathikotrope Funktionsänderungen wie dem Kardiazol, Veratrin und Pikrotoxin nicht zukommen.

Im Anschluß an diesen Vortrag entwickelte sich eine lebhafte *Diskussion*, bei der P. Holtz die Frage aufwarf, wie weit bei dem Lungenödem durch Krampfgifte eine Histaminfreisetzung ursächlich eine Rolle spielt. Hierauf erwidert Rummel, daß beim Vagotomielungenödem der Histamingehalt in der Lunge nicht erhöht sei und daß das Vagotomielungenödem nicht durch Antihistaminika verhindert werde. Ebenso fand Hahn, daß das im inversanaphylaktischen Experiment erzeugte Lungenödem beim Meerschweinchen durch Antihistaminika nicht beeinflußt werde. Holtz sieht jedoch in der fehlenden Wirkung der Antihistaminika keinen unbedingten Gegenbeweis gegen die Möglichkeit, daß Histamin beim Lungenödem doch eine Rolle spielen könne. Ferner spreche auch die fehlende Erhöhung des Histamingehaltes in der Lunge nicht gegen die Histamintheorie des Lungenödems. Hinsichtlich der Wirkung der Antihistaminika macht Hahn jedoch geltend, daß die vermutete Beteiligung von Histamin beim Lungenödem nach der Darstellung von Bovet sich auf den Befund stützt, daß Antihistaminika beim Lungenödem wirksam seien. Es sei daher auf jeden Fall wichtig festzustellen, daß dies entweder für das Lungenödem überhaupt nicht oder nur für gewisse Formen zutrifft. Malorny weist in diesem Zusammenhang darauf hin, daß nach den Untersuchungen von Orzechowski beim Lungenödem durch Sauerstoffüberangebot eine Abnahme des Lungenhistamins und eine Vermehrung des Bluthistamins eintrete. Hahn führt hinsichtlich des Mechanismus des zentrogenen Lungenödems aus, daß hierbei sowohl der hämodynamische als auch der vegetativ-nervöse Faktor berücksichtigt werden müsse. Das Koramin hat einerseits einen stärker parasympathikomimetischen Charakter als das Kardiazol, andererseits wirkt es bei mehreren Tierarten blutdrucksenkend. Beides muß die Entstehung des Lungenödems hemmen. Beim Kaninchen, wo das Koramin sehr stark blutdrucksteigernd wirkt, und zwar stärker als Kardiazol, wurde in seltenen Fällen auch ein Koraminlungenödem beobachtet. Auf die Abhängigkeit der Koraminwirkung von der Tierart ist daher besonders zu achten.

Es besteht eine Parallelität zwischen der Verhinderung des Lungenödems nach Adrenalin und Vagotomie durch Gynergen und der Verhinderung des postoperativ auftretenden Hirnödems durch Blockierung des Ganglion stellatum, wie Driesen mitteilte.

D. Plester und W. Rummel (Düsseldorf): Pharmakologisches zum Problem: Vegetative Innervation und Permeabilität.

Die Beobachtung von Eichler und Barfuss[1], daß eine Infusion von Adrenalin den Histamingehalt des Blutes erhöhe, erlaubte in Verbindung mit der Fugonischen Hypothese[2] von der kausalen Bedeutung des Histamins für das Lungenödem den Gedanken, die Entwicklung des Adrenalin-Lungenödems durch Antihistaminika zu hemmen. Esparmer und Paolini und Halpern[2] führten dieses Experiment mit Erfolg durch. Daraufhin wurden in Frankreich Antihistaminika zur Therapie des Lungenödems in Anwendung gebracht.

In einer früheren Arbeit über das Lungenödem nach Vagotomie wurde von Driesen und Rummel[3] das Problem des Zusammenhanges von Permeabilität und vegetativer Innervation bereits angeschnitten. Sie konnten es wahrscheinlich machen, daß nicht allein der Ausfall des „impermeabilisierenden"[4] histotropen Systems, sondern mehr noch das Überwiegen des ergotropen Systems nach der Vagotomie die Ursache der Durchlässigkeitssteigerung sei.

Es ergab sich jetzt für uns die Frage: Führt diese gesteigerte Funktion des ergotropen Systems ähnlich wie eine Adrenalininfusion zu vermehrter Histaminbildung in der Lunge und dadurch zu einem Ödem, mit anderen Worten, läßt sich auch das Lungenödem nach Vagotomie durch Antihistaminika beeinflussen?

Die verwandten Substanzen Synopen (2 mg/kg), Phenergan (4 mg/kg) und Antistin (10 mg/kg), die jeweils ½ Std vor der Vagotomie subkutan appliziert wurden, waren ohne jede Wirkung auf den Verlauf und den Grad des Lungenödems. Gleichzeitig durchgeführte Histaminbestimmungen an normalen und ödematösen Lungen zeigten uns, daß der Histamingehalt pro Gramm Lungengewebe nicht charakteristisch different war. Mit einer gesteigerten Histaminbildung konnte damit in unserem Falle die Entstehung des Lungenödems nicht erklärt werden.

Entsprechend der ursprünglich geäußerten Anschauung wurde nun versucht, die Auswirkung der Sympathine zu verhüten oder vorübergehend abzuschwächen. Als geeignetes Mittel erschien uns hierfür das Dihydroergotamin (D. H. E.). Versuchsobjekt war das Meerschweinchen. Wir injizierten den Tieren ½ Std vor der Vagotomie 4 mg/kg D. H. E. subkutan, dekapitierten sie wie die Kontrolltiere 1½ Std nach der Vagotomie und bestimmten das spezifische Gewicht der Lunge. Das mittlere spezifische Gewicht der normalen Lungen betrug 0,5, bei den vagotomierten Kontrolltieren 0,73 und bei den Tieren, die vor der Vagotomie D. H. E. erhalten hatten 0,57. Die Lungeninfiltration war bei den vorbehandelten Tieren also wesentlich geringer als bei den Kontrollen. Dieser Unterschied war makroskopisch und histologisch

deutlich. Es kommen Überschneidungen vor, die Reihen differieren jedoch charakteristisch und sind statistisch gesichert. Wir sehen in diesem Befund eine weitere Bestätigung unserer Auffassung über den Entstehungsmechanismus des Lungenödems und einen weiteren Beitrag zur Klärung der Abhängigkeit der Permeabilität von der vegetativen Innervation.

Der D. H. E.-Effekt braucht hierbei nicht direkt in einer Wirkungsumkehr zu bestehen. Durch eine wechselseitige Verdrängung läßt sich die Wirkung hinreichend erklären. Diese Annahme wurde uns durch Untersuchungen am Meerschweinchendarm nahegelegt, die zeigten, daß eine Kontraktion des Darmes auf eine D. H. E.-Gabe hin mit Adrenalin zu lösen ist. Ebenso kann die D. H. E.-Kontraktion durch vorherige Adrenalingaben unterbunden werden. Das Umgekehrte zeigte sich an anderen Därmen, die sich auf Adrenalin kontrahierten. Diese Adrenalinkontraktion ist mit D. H. E. aufzuheben oder durch vorherige D. H. E.-Gabe zu verhüten. Bemerkenswerterweise reagierten diese Därme nicht oder kaum auf D. H. E.

Zum Schluß dürfen wir noch darauf hinweisen, daß wir an Stelle der Durchtrennung der Vagi auch eine „pharmakologische Vagotomie" in einer 40% Novocain enthaltenden Kollidonplombe durchführten. Der Erfolg war der gleiche wie bei der mechanischen Unterbrechung. Vielleicht ergeben sich hier Parallelen zu den bisher ungeklärten Todesfällen nach Infiltrationsanästhesie des Halsgebietes in der Klinik.

Literatur.

[1] Eichler u. Barfuss: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 245 (1940). — [2] zit. nach D. Bovet-F. Bovet-Nitti: Médicaments du système nerveux végétatif. S. Karger, Bale 1949, S. 823. — [3] Driesen, W., u. W. Rummel: Dtsch. Med. Wschr. **74**, 965 (1949). — [4] Tschermak-Seysenegg: Med. Klin. **7** (1933).

F. Jung (Berlin) und W. Schoetensack (Würzburg): **Entzündungswidrige synthetische Azulene.**

Nach Heubner und Mitarbeitern kann die entzündungswidrige Eigenschaft der Kamille einem in ihrem ätherischen Öl zu etwa 1—5 mg% enthaltenen, tiefblau gefärbten Kohlenwasserstoff, einem sogenannten Azulen zugeschrieben werden. Die Konstitution dieses als Chamazulen bezeichneten Kohlenwasserstoffes konnte trotz erheblicher Fortschritte der Azulenchemie bis heute noch nicht sicher geklärt werden. Die bisherige Prüfung von verschiedenen synthetisch zugänglichen Azulenen, darunter auch des natürlich vorkommenden Vetivazulens, ergab keine eindeutig antiphlogistischen Eigenschaften. In Zusammenarbeit mit H. Arnold vom Institut für experimentelle Chemotherapie in Frank-

furt a. M. und der Chemiewerk Homburg A. G. konnte von uns eine Reihe von di- und trisubstituierten Azulenen der pharmakologischen Untersuchung zugeführt und bei einem Teil eine gute antiphlogistische Wirkung festgestellt werden.

Zur Testung der therapeutischen Wirksamkeit der einzelnen Substanzen prüften wir an Augen von Meerschweinchen und Kaninchen den Heilverlauf einer durch Senföl hervorgerufenen Chemosis. Um über qualitative Feststellungen hinaus auch quantitative Aufschlüsse über den therapeutischen Wert der einzelnen Präparate zu erhalten, wurden jeweils größere Kollektive von Tieren verwendet. Durch geeignete Auswertungsmethoden gelang es, statistisch die entzündungswidrige Eigenschaft der einzelnen Produkte in Zahlen festzulegen.

Als dem Chamazulen gleich wirksam erwiesen sich das 1-Isopropyl-5-methyl-azulen und das 6-Isopropyl-1,4-dimethyl-azulen. Wir hatten auch Gelegenheit, neben den eigentlichen Azulenen einige Azulenkarbonsäuren, deren Ester sowie Azulenalkohole zu überprüfen. Ihre antiphlogistische Wirkung erwies sich durchweg vermindert, wenn nicht aufgehoben, auch dann, wenn sie sich von wirksamen Azulenen ableiteten.

Bei dieser Gelegenheit prüften wir die verschiedenen Azulene an einer Reihe von Präparaten, wie isoliertem Dünndarm, Dünndarm in situ, Froschherz, Froschmuskel, am Kaninchenohr und schließlich auch am Blutdruck verschiedener Tiere; sie erwiesen sich als weitgehend untoxisch, bzw. wirkungslos. Selbst intravenöse Gaben von über 100 mg wurden von Kaninchen symptomlos vertragen. Im Gegensatz zu den Azulenen zeigten die Azulenkarbonsäuren an den genannten Präparaten und Tieren eine sehr viel stärkere Toxizität.

H. Düker (Marburg): Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Cyren B und Progynon auf die psychische Leistungsfähigkeit.

Mit 1 Textabbildung.

Cyren B (Bayer) und Progynon (Schering) sind hinsichtlich ihrer Wirkung auf die psychische Leistungsfähigkeit in längeren Versuchsreihen mit einem psychologischen Verfahren untersucht worden.

Das angewendete Verfahren gestattete es, möglichst eindeutige Feststellungen über den Grad der Leistungsfähigkeit zu machen, indem es die für die Leistungsfähigkeit grundlegende psychische Funktion erfaßte. Als solche war durch eingehende experimentelle Untersuchungen die *Koordinationsfähigkeit* ermittelt worden. *Koordination ist das zu einer Gesamttätigkeit geordnete Zusammenwirken von Einzeltätigkeiten, die zur Erreichung eines bestimmten Zwecks erforderlich sind.* Soll z. B. eine Rechenaufgabe gelöst werden, so müssen viele Einzeltätigkeiten wie die verschiedenartigsten Prozesse der Auffassung, des Behaltens, der Reproduktion, des Vergleichens, der Abstraktion u. ä. m. so geordnet eingesetzt werden, daß aus

dem Zusammenwirken aller die Gesamttätigkeit entsteht, die zur Lösung der vorgestellten Aufgabe führt. Fällt auch nur eine Einzeltätigkeit aus, oder wird eine nicht richtig eingesetzt, so mißlingt die Lösung.

Die Koordination erfordert eine *psychische Anspannung*. Die Intensität derselben ist abhängig von der Schwierigkeit der auszuführenden Leistung. Gelingt es nicht, die erforderliche Anspannung aufzubringen, so ist die Koordination und damit auch die beabsichtigte Leistung nicht möglich. Das erkennt man am deutlichsten, wenn man versucht, im ermüdeten Zustand eine komplizierte Tätigkeit durchzuführen. Dagegen gelingen im frischen Zustand solche Tätigkeiten verhältnismäßig leicht.

Für das Zustandekommen einer Leistung ist zwar die Koordination notwendig und grundlegend, doch reicht sie allein hierzu noch nicht aus. Es kommen vielmehr, wie die Beobachtung zeigt, entsprechend der Art der beabsichtigten Leistung noch die verschiedenartigsten psychischen Prozesse in Betracht.

Um die Leistungsfähigkeit möglichst gut zu erfassen, mußte das Versuchsverfahren es ermöglichen, den *Grad der psychischen Anspannung* zu ermitteln, den das Individuum unter bestimmten Bedingungen aufzubringen vermag. Bei der Ausgestaltung des Verfahrens war daher zu beachten, daß die Anforderungen an die intellektuellen und praktischen Fähigkeiten möglichst gering, aber an die Koordination und damit an die Anspannung möglichst hoch waren. Ferner mußte es zahlenmäßige Feststellungen gestatten, sowohl über die Quantität als auch über die Qualität der Leistung, so daß man aus der Höhe der Leistung und der Anzahl der Fehler möglichst objektive Schlüsse auf den Grad der Leistungsfähigkeit ziehen konnte.

Dies wurde erreicht durch fortlaufendes Rechnen von Aufgaben, die in zweckentsprechender Art zusammengestellt waren. Nachstehend seien einige Aufgaben angeführt, um von der Art derselben eine Vorstellung zu geben:

$6+3-4$	$9-3+7$	$9-5+3$	$3+9-6$	$8-2+9$
$7-4+5$	$2+9-5$	$5+4+7$	$8+9-2$	$7-3+4$

Die Aufgaben, die stets aus 2 Teilaufgaben bestanden, wurden einzeln dargeboten. Das Rechnen mußte so durchgeführt werden, daß die Versuchsperson zuerst die obere Teilaufgabe löste, sich das Ergebnis merkte und anschließend die untere Teilaufgabe löste, deren Ergebnis ebenfalls behalten werden mußte. War nun das erste Ergebnis kleiner als das zweite, so addierte sie beide; war dagegen das erste Ergebnis größer, so subtrahierte sie das kleinere vom größeren.

Die Aufgaben waren so zusammengestellt, daß beim Addieren oder Subtrahieren der Teilergebnisse stets ein Zehner überschritten bzw. unterschritten wurde. Dadurch wurde der Schwierigkeitsgrad der Aufgaben auf ziemlich gleicher Höhe gehalten. Beim Addieren der Teilergebnisse ergab sich niemals ein Resultat, das größer war als 25.

Die Durchführung dieser Rechentätigkeit erforderte auf die Dauer eine außerordentlich starke psychische Anspannung und war daher sehr anstrengend, so daß sie von stark ermüdeten oder erschöpften Personen meistens nicht lange durchgehalten wurde.

Die Darbietung der Aufgaben, die mit der Maschine auf ein besonders präpariertes Filmband geschrieben waren, geschah durch einen für diesen Zweck konstruierten Apparat. Dieser projizierte die Aufgaben in Spiegelschrift auf die Rückseite eines Opalglasschirmes, so daß die Versuchsperson sie von der Vorderseite im normalen Bild ablesen konnte. Die Auslösung der Projektion erfolgte durch die Versuchsperson mittels Druckschalter, den sie in der Hand hielt. Die Lösungen

mußten der Kontrolle wegen laut ausgesprochen werden. Die Versuchspersonen waren angewiesen, möglichst schnell, aber trotzdem richtig zu rechnen*.

Die Versuche sind durchgeführt worden mit Personen (größtenteils Frauen), die an Erschöpfungszuständen litten und infolgedessen in ihrer Arbeitsfähigkeit beschränkt waren, bei denen aber ein organisch krankhafter Befund möglichst nicht vorlag. Diese klagten durchweg über starke körperliche und geistige Abspannung, rasche Ermüdbarkeit, Nachlassen der Merkfähigkeit, leichte Erregbarkeit, Arbeitsunlust, mangelnde Initiative, schlechte Konzentrationsfähigkeit. Es wurde darauf geachtet, daß vor Beginn der Versuche ein ärztlicher Befund vorlag.

Die Versuchsreihen waren so angeordnet, daß zunächst 2 Monate hindurch ein *Leerpräparat* verabreicht wurde, das hinsichtlich des Ge-

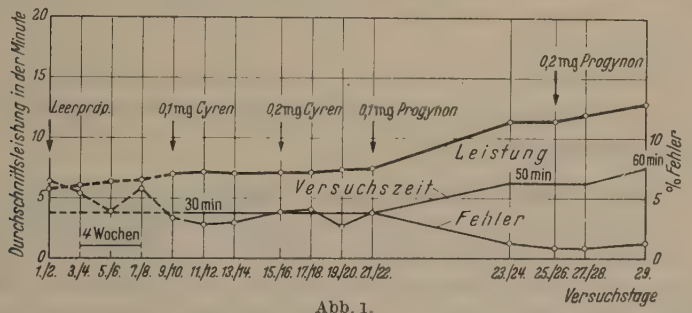


Abb. 1.

Durchschnittliche Leistung während einer Versuchsreihe über die Wirkung von Cyren B und Progynon auf die psychische Leistungsfähigkeit. Versuchsperson S. V., 26jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat ---------, bei Anwendung von täglich 0,1 (0,2) mg Cyren B bzw. die gleiche Dosis Progynon — — —. — Auf der linken Senkrechten ist die durchschnittliche Anzahl der in der Minute gerechneten Aufgaben, auf der rechten der Prozentsatz der falschen Lösungen und auf der Waagerechten die zeitliche Aufeinanderfolge der Leistungskontrollen abgetragen. Jeder angegebene Wert stellt das Mittel aus zwei Versuchstagen dar (mit Ausnahme der letzten Leistungskontrolle). Außerdem ist die jeweilige Versuchszeit (in Minuten) eingetragen.

ruchs, des Geschmacks und der äußeren Aufmachung von dem eigentlichen Präparat nicht zu unterscheiden war. Danach erhielten die Versuchspersonen 3 Monate lang *Cyren B* und zuletzt *Progynon*, und zwar Cyren B in Tablettenform und Progynon in Form von Tropfen in einer Dosierung von zunächst täglich 0,1 und später 0,2 mg.

Bei der Durchführung der Versuchsreihen wurde möglichst die gleiche Tageszeit innegehalten. Mit den Berufstätigen fanden die Versuche fast durchweg nach der Berufsarbeit statt.

Die Ergebnisse der Versuchsreihen waren in allen Fällen eindeutig. Als Beispiel werden in der nachstehenden Abbildung die zahlenmäßigen Ergebnisse einer Versuchsreihe mit einer 26jährigen Frau angeführt.

* Eingehende Darstellung des Versuchsverfahrens gibt Düker, H.: Psychol. Forschg. **23**, 10 (1949).

Diese lassen klar erkennen, daß unter der Wirkung von Cyren eine Leistungssteigerung nicht stattgefunden hat, wohl aber eine erhebliche durch Progynon. Die Rechentätigkeit erforderte unter der Cyrenwirkung einen ebenso hohen Grad von Anspannung wie unter Leerpräparat.

Erst unter der Wirkung des Progynons verlief das Rechnen mit geringerer Anstrengung, obwohl die Versuchszeit beträchtlich länger und das Arbeitstempo wesentlich schneller war als vorher.

Die übrigen Versuchsreihen dieser Art führten grundsätzlich zu denselben Ergebnissen, so daß man zu der Feststellung kommt: Cyren vermag auf die Leistungsfähigkeit keine merkbaren günstigen Einwirkungen auszuüben. Es fehlt ihm also eine wesentliche Wirkungsform, die dem Progynon eigen ist. Der Wirkungsbereich des Cyrens ist daher nicht der gleiche wie der des Progynons. Daraus kann in therapeutischer Hinsicht gefolgert werden, daß Cyren niemals ein vollwertiger Ersatz für Progynon sein kann.

R. Weigmann (Göttingen): Über die Wirkung einiger Pharmaka auf die Sinnesrezeptoren der Haut.

Zur Untersuchung des Einflusses von Pharmaka auf die Hautsinnesorgane wurde die Wirkung von Menthol, Veratrin. sulf., Aconitin. hydrochlor., Antistin und Pyribenzamin, Novocain und Pantocain auf die Reizschwelle und damit die Erregbarkeit *einzelner* Rezeptoren der verschiedenen Sinnesqualitäten geprüft. Dabei zeigte das Menthol die merkwürdige Eigenschaft, in *hoher Konzentration* sämtliche Sinnesqualitäten zu *erregen*, in *niedriger* zu *lähmen*. Diese Tatsache kann nicht erklärt werden, gibt aber eine Bestätigung der klinischen Erfahrungen. Aconitin und Veratrin lähmen sämtliche Rezeptoren, das Veratrin nach einer kurzen Erregbarkeitssteigerung der Schmerzempfindung. Die Antihistaminika (Antistin, Pyribenzamin) erregen die Kalt- und Warmrezeptoren, lähmen die Schmerz- und Druckempfindung und lassen das Druck- und Kitzelgefühl unbeeinflußt. Die Lokalanästhetika lähmen sämtliche Sinnesqualitäten, bis auf die Druck- und Kitzelempfindung. Die Erregbarkeitssteigerung der Kalt- und Warmrezeptoren durch die Antihistaminstoffe läßt sich nicht erklären; es ist an eine besondere Eigenwirkung dieser Stoffe zu denken. Da eine solche auch bei der Lähmung der Schmerzrezeptoren möglich ist, können auch diese Versuche nicht klären, ob das Histamin eine Rolle bei der Schmerzentstehung spielt. Die Versuche zeigen, daß die lokalanästhesierende Fähigkeit der Antihistaminika auf einer anderen Wirkungsweise beruhen kann, wie bei den Lokalanästhetika, die im Gegensatz z. B. zum Antistin auch die Kalt- und Warmrezeptoren lähmen. In allen Versuchen verhält sich die durch unterschwellige Reizung der Schmerzrezeptoren erzeugte Juck-

empfindung in der Art und vielfach auch im Ausmaß der Reaktion dem Schmerz als identisch. Die gleiche Zuordnung gilt für die Druck- und Kitzelempfindung.

Diskussion. Schäfer weist darauf hin, daß Veratrin die Erregbarkeit und die „Spontanerregung" bei allen bekannten Rezeptoren im direkten elektrophysiolosichen Versuch steigere. Es ergäbe sich daher die Frage, wie man die abweichende sinnesphysiologische Wirkung des Veratrins in den Versuchen des Vortragenden erklären kann.

Nach Oettel stehen die Messungen, nach denen Menthol in hoher Konzentration eine gleichmäßige Erregung, in niederer Konzentration eine gleichmäßige Dämpfung aller Empfindungsqualitäten machen soll, im Widerspruch zu der Erfahrung des eigenen Lebens, nach der durch Menthol auf der Haut und Schleimhaut eine elektive Überempfindlichkeit gegen Kälte eintritt. Auch Druck wird nach Menthol als Kälte empfunden. Die Kälterezeptoren müssen also anders beeinflußt werden als die Druckrezeptoren.

Heubner äußert ebenfalls Erstaunen über die auffallend geringe Nervenwirkung des Veratrins in den Versuchen des Vortragenden. Nach vielfachen eigenen und fremden Beobachtungen wirke das Veratrin recht elektiv erregend auf sensible Nerven, und zwar sowohl auf die Endigungen wie auf die Fasern im Verlauf der Nervenstämme.

Schlußbemerkung Weigmann: Auf die Anfrage von Heubner wird erklärt, daß die Juckerregung an den Schmerzpunkten und die Kitzelempfindung an den Druckpunkten bei unterschwelligen mechanischen Reizen ausgelöst werden konnten. Die Steigerung der Erregbarkeit nach Umspritzung des afferenten Nerven mit Veratrin könnte auf einen anderen Angriffspunkt des Stoffes als am Rezeptor beruhen. — Herrn Schäfer werden als wirksame Grenzkonzentrationen für Veratrin 0,01—0,05% angegeben. Herrn Oettel wird erwidert, daß nach Menthol in hoher Konzentration niemals eine Kaltempfindung nach Erregung der Druckrezeptoren zu beobachten war.

W. Schoetensack (Würzburg): Zur Kenntnis der Colchicinwirkungen.

Die Wirkung von Mitosegiften wurde vom morphologischen Gesichtspunkt aus in vielfältiger Art und Weise untersucht. Die Frage nach den sich dabei abspielenden biochemischen Reaktionen mußte weitgehend offengelassen werden.

Unter allen Zellteilungsgiften wurde das Colchicin als das ältestbekannte besonders eingehend untersucht. In den letzten Jahren wurde von verschiedener Seite aus nach einem mutmaßlichen Eingriff in fermentative Reaktionen gesucht.

Nach Versuchen in vivo wird Colchicin von Lettré neuerdings als ein Inhibitor der Adenosintriphosphatase vermutet. Schoetensack stellte 1948 eine Beeinflussung gewisser Phosphatasen durch Colchicin fest, und Versuche von Lang und Mitarbeitern ergaben in vitro eine Hemmung der Dephosphorylierung sowie der Desaminierung von hochmolekularer Thymonukleinsäure. — Hölscher fand mittels TTC als

Reduktionsindikator an Tumorzellen eine Hemmung der Dehydrasen durch Colchicin.

Wir selbst hatten uns anläßlich der Untersuchung der Beeinflußbarkeit verschiedener Fermentsysteme durch Colchicin mit dessen Wirkung auf Dehydrasen in vitro befaßt. — Bei der Überprüfung einzelner Dehydrasesysteme stellten wir eine ausgesprochene Wirkung auf die Methylenblauentfärbung von Meerschweinchen- und Rattenleberextrakten fest. Noch Konzentrationen von $10^{-6}\,m$ vermögen nach vierstündiger Einwirkungszeit bei 37° C die Entfärbung um 60% zu hemmen, während diese bei kürzeren Einwirkungszeiten bis zu 40% beschleunigt wird.

Eine Analyse, ob hierbei bestimmte Dehydrasen betroffen werden, führte überraschenderweise zu der Feststellung, daß Zugabe von Succinat, Zitrat, Pyruvat und Laktat die Wirkung weitgehend aufzuheben vermag. Lediglich in Konzentrationen bis 10^{-2} m Colchicin läßt sich unabhängig von der Menge des zugegebenen Substrates eine gewisse Hemmung feststellen. — Nach den vorliegenden Befunden ist es naheliegend, auf einen Substratschutz der Fermente gegenüber Colchicin zu schließen. Allerdings muß die Frage, wieso gerade Leberextrakte in derartiger Weise beeinflußt werden, noch offen bleiben. Vielleicht ist es interessant an dieser Stelle an die Befunde von Lettré und Mitarbeiter zu erinnern, nach denen sich die Colchicinwirkungen an Gewebskulturen durch Digitalisglykoside aufheben lassen. Die Überprüfung einiger anderer Fermentsysteme, vor allem der Gewebsatmung, ergab keine wesentlich neuen Befunde, so daß nach unseren heutigen Kenntnissen das Colchicin in erster Linie in phosphorylierende und dehydrierende Reaktionsabläufe einzugreifen vermag.

Diskussion. W. Schmidt: An Gartenkresse bewirken Colchicinkonzentrationen welche die typische Wirkung an den Wurzeln (Keulenbildung) noch nicht erzeugen, eine Förderung des Wurzelwachstums. Die Keulenbildung der typischen Colchicinwirkung wird bei gleichzeitiger Applikation von Herzglykosiden, aber auch von Saponin verhindert.

G. Urban und H. Pottenstein (Jena): Untersuchungen über die Penicillinausscheidung.

Die Ausscheidung des Penicillins erfolgt vornehmlich durch Nieren und Leber. Durchschnittlich wird die im menschlichen Harn ausgeschiedene Menge mit 70% angegeben, sie soll in manchen Fällen sogar bis zu 99% betragen. Über den Anteil der Galle an Penicillin sind die Angaben noch unvollkommen.

In vergleichenden Versuchen an verschiedenen Tierarten wurde daher die Ausscheidung des Penicillins durch Leber und Nieren verfolgt. Das Penicillin wurde in Dosierungen von 500—10000 E/kg intramuskulär

angewandt. Die Galle wurde in halb- bis einstündlichen Intervallen gewonnen. Der gesamte während eines Versuches sezernierte Harn wurde zum Schluß aus der Blase entnommen. Die Bestimmungen des Penicillingehaltes erfolgten mit Hilfe des Platten- und Reihentestes sowie mit der Nitroanthrachinonmethode*. Dadurch wurden die den biologischen Verfahren anhaftenden Fehler, soweit wie möglich, ausgeglichen und brauchbare Durchschnittswerte erzielt.

Die Versuche führten zu dem Ergebnis, daß selbst bei Tieren der gleichen Art große Unterschiede in den Ausscheidungsverhältnissen bestanden. Diese erstreckten sich auf die Gesamtmengen, aber auch auf die durch Leber und Nieren ausgeschiedenen Teilmengen des Penicillins. Die Unterschiede traten beim Wechsel der Tierart noch mehr hervor. Eine Übereinstimmung in fast allen Versuchen ergab sich nur insofern, als die Ausscheidung des Penicillins in der Galle unmittelbar nach der Applikation einsetzte. Sie war auch bei hohen Dosen spätestens nach 9 Std bis auf geringe Reste beendet. Das Schwergewicht der Ausscheidung in der Galle konzentrierte sich auf die der Einspritzung folgenden 3—5 Stunden.

Kaninchen, die bei Choleresevversuchen häufig anders reagieren als sonstige Pflanzenfresser, schieden nur sehr geringe Mengen des zugeführten Penicillins in der Galle aus, nach unseren bisherigen Versuchen 0,5% bis höchstens 4%. Der nach großen Gaben ermittelte Höchstwert in 1 cm³ Galle betrug 32 E. Die Harnwerte schwankten zwischen 11% und 90%. Bei Katzen wurden etwas höhere Penicillinwerte in der Galle gefunden, nämlich bis 10% und bis 121 E/cm³. Wegen ihrer spärlichen Gallesekretion, die zugleich eine Verlängerung der Ausscheidungszeit mit sich brachte, waren Katzen für die Versuche wenig geeignet. Allerdings ließ sich durch Decholin die Gallesekretion und damit auch die Penicillinausscheidung steigern. Im Katzenharn wurden Penicillinwerte von 27% bis 67% bestimmt. Ratten schieden in der Galle bis 15% Penicillin aus und bis 106 E/cm³. Dafür lagen aber die Harnwerte niedrig, nämlich zwischen 5% und 38%. Ein erheblicher Teil des Penicillins, mehr als die Hälfte, entzog sich bei Ratten dem Nachweis. Offenbar war dieser Verlust durch Stapelung und Abbau bedingt.

Am besten eigneten sich für die Penicillinausscheidungsversuche Meerschweinchen, weil sie einen steten und gleichmäßigen Gallefluß haben. Meerschweinchen sind zur Eliminierung großer Mengen Penicillin durch die Leber befähigt. Die Werte erstreckten sich von 8,1% nach Verabreichung von 500 E/kg bis zu 56,1% nach Verabreichung von 10000 E/kg, und der in 1 cm³ Galle ermittelte Höchstwert betrug 555 E. Mit der Erhöhung der Dosis nahm also die Leberausscheidung konti-

* Frl. Rupp danken wir für die Ausführung der Penicillinbestimmungen.

nuierlich zu. Die im Harn ausgeschiedenen Mengen waren auch beim Meerschweinchen unterschiedlich. In manchen Fällen wurde trotz geringer Ausscheidung in der Galle nur wenig Penicillin im Harn gefunden, so daß der Verlust prozentual sehr hoch war. Bei anderen Tieren waren die in Galle und Harn ausgeschiedenen Anteile beide sehr groß, die Verlustquote infolgedessen gering. Nur für einige Tiere traf die Erwartung zu, daß bei niedriger Konzentration des Penicillins in der Galle die Harnkonzentration entsprechend hoch war und umgekehrt. Die Penicillinmengen im Harn schwankten in den bisherigen Versuchen zwischen 15% und 75,6%, die Verlustquoten zwischen 6% und 65%.

Insgesamt ging aus unseren Tierversuchen hervor, daß die in der Galle ausgeschiedenen Penicillinmengen beträchtliche Werte erreichen können und manchmal sogar die im Harn ausgeschiedenen Mengen übertreffen. Daraus folgt, daß die Leber kaum die Fähigkeit zur Penicillinzerstörung großen Ausmaßes besitzt. Nach den Tierversuchen erscheint die Annahme begründet, daß auch beim Menschen der Penicillinausscheidung in der Galle keine ganz untergeordnete Bedeutung zukommt. Außerdem muß im Hinblick auf die großen Unterschiede in den Ausscheidungsverhältnissen bei Tieren damit gerechnet werden, daß beim Menschen ähnliche individuelle Schwankungen bestehen, was durch die klinischen Erfahrungen, besonders mit Depotpenicillin, bestätigt wird. Dieser Gesichtspunkt verdient vielleicht bei der Dosierung des Penicillins mehr hervorgehoben zu werden als bisher, wo vorwiegend nur die Penicillinempfindlichkeit der Erreger berücksichtigt wurde.

Diskussion. Hecht gibt die Anregung, die Penicillinausscheidung durch die Galle nach Nephrektomie oder Caronamid zu messen.

Nach Loeser müßte es von Interesse sein zu prüfen, ob sich die mit Decholin beobachtete Steigerung der Penicillinausscheidung in der Galle auch bei Ratten, d. h. Tieren ohne Gallenblase, nachweisen läßt.

H. F. Zipf (Bonn): Untersuchungen über die Beeinflussung des Bezold-Jarisch-Reflexes.

In Versuchen an Katzen konnten wir feststellen, daß während des tierexperimentellen Veratrin- und Mistelkollapses der Katze unter den *zentral wirksamen Stoffen Cardiazol i. v.* nur eine geringe und dann flüchtige, häufig aber keine blutdrucksteigernde Wirkung besaß. *Coramin* und *Strychnin* i. v. waren am Blutdruck praktisch wirkungslos. Alle Stoffe wurden aufsteigend bis zur Krampfdosis gegeben. Die beste pressorische Wirkung besaßen *5—10% Kohlensäure-Luftgemische*. Die bestehende Reflexbradykardie wurde durch CO_2 teilweise verstärkt.

Sympathikomimetika, wie z. B. *Adrenalin*, *Pervitin* und *Sympatol* wirkten meist zuverlässig pressorisch und pulsbeschleunigend. Ihr

Angriffspunkt fällt aber streng genommen außerhalb des Reflexbereiches. Als ungünstige Begleiterscheinung konnte man gelegentlich bei Adrenalin und Pervitin eine Verstärkung des bradykardischen Reflexzweiges, vagale Pulsfolgen und flüchtige Druckstürze beobachten. Die brüske Blutdrucksteigerung könnte vielleicht von den chemisch sensibilisierten Herzrezeptoren aus zu diesen Rückfällen in den depressorischen Reflex führen. *Veritol* war unwirksam.

Eine günstige Beeinflussung des Bezold-Jarisch-Reflexes scheint durch Stoffe gegeben zu sein, die wir als hemmend gegenüber der Depolarisation und der Kaliumabgabe, als membrandichtend und lokalanästhesierend kennen. Als wir in eigenen Versuchen einige Lokalanästhetika, z. B. 2 mg/kg Pantocain *während* des Bezold-Jarisch-Effektes verabreichten, beobachten wir, daß die kollapsbehebende Wirkung eintreten, aber auch fehlen konnte. Die Spaltstücke von Novocain und Pantocain, *Paraaminobenzoesäure* einserseits, *Diäthylaminoäthanol* bzw. *Dimethylaminoäthanol* andererseits, erwiesen sich, allein oder zusammen gegeben, völlig unwirksam. Die eventuelle Wirkung scheint also an die Erhaltung des Gesamtmoleküls gebunden zu sein. Auch am gleichen Versuchstier ließ sich die verschiedene Wirksamkeit der Kollapsantagonisten zeigen. Im ersten Veratrinkollaps zeigte sich die Dosis von 1 mg/kg des lokalanästhetisch wirksamen Antihistaminkörpers *Antergan* blutdrucksteigernd und pulsbeschleunigend, im zweiten Kollaps dagegen wirkungslos. Dieses zweifache Verhalten wird uns nochmals begegnen.

Wir betrachteten die Beeinflussung des Bezold-Jarisch-Reflexes auch unter dem Gesichtspunkte der sogenannten „parasympathikolytischen" Wirkung. Es handelte sich um die eigentlichen Atropinkörper *Atropin*, *Homatropin*, *Scopolamin*, den atropinähnlichen Stoff *Syntropan*, und wir konnten mit Recht auch „Parasympathikolytika" aus anderen Körperklassen, z. B. die Antihistaminstoffe Pyribenzamin und das bereits erwähnte Antergan hinzurechnen. Blutdruck- und pulsbeschleunigend, aber auch unterdrückend gegenüber einer zweiten Veratrindosis wirkten 10 γ/kg *Atropin*, 50 γ/kg *Scopolamin*, 5 mg/kg *Syntropan* und 2 mg/kg *Pyribenzamin*. Und nun sei am Beispiele des *Homatropins* wieder jenes zweifache Verhalten gezeigt, das wir bei Antergan bemerkten. Blutdruck- und pulsbeschleunigend wirkten 0,25 mg/kg Homatropin während des ersten Kollapses. Im zweiten Veratrinkollaps wirkte die doppelte Homatropingabe nur noch pulsbeschleunigend, nicht mehr blutdrucksteigernd, auch nicht bei Wiederholung. Daß der kardiovaskuläre Reflexzweig schlechter anspricht als der kardiokardiale, konnten Jarisch und Mitarbeiter schon beim Mistelkollaps beobachten. Bei einer genügenden Veratrindosierung kommt es offenbar in ähnlicher Weise zu einer schweren Beeinflußbarkeit des vaskulären Reflexzweiges wie beim Mistelkollaps. Der Bezold-Jarisch-Reflex ist also sowohl

bezüglich der verwandten Detektorstoffe als auch bezüglich des jeweiligen Wirkungsstadiums verschieden zu werten. Damit zeigt sich die Schwierigkeit für das Aussuchen eines geeigneten *Modellversuches*, der sich mit den klinischen, kardiogenen, reflektorischen Kollapsformen vergleichen läßt. Der Veratrinkollaps scheint sich besser zu eignen als der Mistelkollaps.

W. Wilbrandt (Bern): Die Kinetik des Verdrängungsmechanismus Histamin-Antihistamin.

Unter der von Gaddum[2] eingeführten Voraussetzung, daß

1. Histamin H mit einem Rezeptor R reversibel einen Komplex HR bildet, dessen Konzentration (HR) die Histaminwirkung bestimmt,

2. Antihistamin A ebenfalls reversibel mit dem Rezeptor R einen Komplex (AR) bildet, der keine Wirkung auslöst,

läßt sich nach dem Massenwirkungsgesetz folgendes ableiten:

1. Eine bestimmte Konzentration (A) des Antihistamins erhöht, wie von Clark und Raventos[1] angenommen, die für eine bestimmte Wirkung erforderliche Histaminkonzentration um einen konstanten, vom Grad der Histaminwirkung unabhängigen Faktor F. Er wird als Schutzfaktor bezeichnet.

2. Der Schutzfaktor F ist eine lineare Funktion der Antihistaminkonzentration (A). Der Proportionalitätsfaktor ist die Assoziationskonstante (reziproke Dissoziationskonstante) des Rezeptor-Antihistamin-Komplexes AR.

Ableitung.

Sind $(H)_I$ und $(H)_{II}$ wirkungsgleiche Histaminkonzentrationen ohne und mit Anwesenheit von A, so ergibt sich, wenn K_H und K_A die Dissoziationskonstanten der Komplexe HR und AR sind und R_T die Gesamtkonzentration des Rezeptors R ist:

$$(HR)_I = R_T \frac{(H)_I}{K_H + (H)_I} \tag{1}$$

$$\text{und } (HR)_{II} = R_T \frac{K_A (H)_{II}}{K_A (H)_{II} + K_H ((A)_{II} + K_A)} \tag{2}$$

$$\text{und aus (1) = (2): } F = \frac{(H)_{II}}{(H)_I} = 1 + \frac{(A)}{K_A}. \tag{3}$$

Beispiele.

Die Resultate der Messungen von Wells c. s.[5] am Blutdruck des Hundes unter Histaminwirkung mit und ohne Benadrylschutz stimmen mit Gleichung 3 befriedigend überein. Konstanz von F ergab sich

durchwegs, lineare Abhängigkeit zwischen F und A bei kleinen und mittleren Benadryldosen. Eine Deutung der Abweichung bei höheren Dosen (F wird zu klein) scheint aus der Versuchsanordnung möglich (kumulative Berechnung der Gesamtdosis aus mehreren konsekutiven Einzeldosen, wobei die errechnete Gesamtdosis wegen Ausscheidung u. a. zu niedrig werden kann). Konstanz von F zeigen auch die Messungen des Blutdruckabfalls an der Katze nach Histamin mit und ohne Thephorinschutz von LEHMANN c. s.[3], ferner die Versuche von SCHILD[4] am Meerschweinchendarm. Diese enthalten in der Differenz $pA_{10}—pA_2$ auch eine Größe, die mit der Abhängigkeit zwischen F und (A) zusammenhängt. Die Differenz sollte nach Gleichung 3 den Wert 0,95 haben. Aus SCHILDS Bestimmungen nach 2 min und 10 min Einwirkungszeit errechnet sich für Neo-Antergan im Mittel 0,91, für Benadryl 1,005.

Diskussion.

Das Resultat der Berechnung unterscheidet sich von früheren[2, 1] darin, daß infolge der Verwendung wirkungsgleicher Dosispaare Annahmen über die quantitative Beziehung zwischen Dosis und Wirkung nicht mehr gemacht werden müssen. Es ist somit hypothesenfreier. Dafür ist K_H und $\frac{K_H}{K_A}$, für deren Ermittlung solche Annahmen unentbehrlich sind, nicht experimentell zugänglich.

Die Dissoziationskonstante K_A hat die Dimension einer Konzentration. Sie entspricht derjenigen Antihistaminkonzentration, die für gleiche Wirkung eine doppelte Histaminkonzentration nötig macht ($F = 2$; $(A) = K_A$). Sie ist also identisch mit der von CLARK und RAVENTOS[1] vorgeschlagenen Größe für den Wert 2. Zweckmäßig erscheint die Verwendung ihres negativen Logarithmus pK_A, der identisch ist mit der von SCHILD[3] eingeführten Größe pA_2, und der den Vorzug hat, mit der Wirksamkeit anzusteigen.

Literatur.

[1] CLARK, A. J., and J. RAVENTOS: Quart. J. exper. Physiol. 26, 375 (1937). — [2] GADDUM, J. H.: J. of Physiol. 89, 7 P (1937). — [3] LEHMANN, G., L. O. RANDALL, and E. HAGAN: Arch. internat. Pharmacodynamie 78, 253 (1949). — [4] SCHILD, H. O.: Brit. J. Pharmacol. 2, 189 (1947). — [5] WELLS, J. A., H. C. MORRIS, H. B. BULL, and C. A. DRAGSTEDT: J. of Pharmacol. 85, 122 (1945).

Diskussion. P. HOLTZ nimmt an, daß ein Blockierungs- oder Verdrängungsmechanismus am ehesten für *den* Histaminantagonismus in Betracht zu ziehen sei, der durch Histamin selbst sowie durch Histidin und Arginin ausgelöst werde. Bei der Gruppe der Antihistaminika müsse wohl ein biologisch-antagonistischer, z. B. membrandichtender Effekt angenommen werden.

HAHN weist darauf hin, daß nach der Verdrängungstheorie auch erwartet werden muß, daß das Histamin die Antihistaminika verdrängen kann. Er erwähnt Versuche von BOVET, nach denen die toxische bzw. letale Wirkung von Antihista-

minika durch vorherige Histamingaben gebremst werden kann. Jedoch müsse diesen Versuchen nach eigenen Beobachtungen wahrscheinlich eine andere Deutung gegeben werden.

Druckrey findet, daß auch durch theoretische Untersuchungen von Druckrey und Küpfmüller festgestellt wurde, daß das Verhältnis der Zeitkonstanten für die Kombination und Dissoziation der gebildeten Komplexe die bestimmende Größe für das Ausmaß der Verdrängungserscheinungen sein muß.

R. Jaques und R. Domenjoz (Basel): Histamin-antagonistische Wirkung bei Pyrazolen und Antihistaminen.

Als Antihistamine (AH) bezeichnet man solche Substanzen, welche die Wirkungen des Histamins in spezifischer Weise abzuschwächen bzw. aufzuheben vermögen. Dieser besondere Effekt, der im Experiment meist als spasmolytische Wirkung gemessen wird, findet sich auch bei einigen typischen Spasmolyticis bzw. Parasympathikolyticis. Andererseits zeigen manche hochwirksame Antihistamine deutliche parasympathikolytische Wirkungen. Besonders interessant ist die Tatsache, daß auch bei den therapeutisch verwendeten Pyrazolen histamin-antagonistische Eigenschaften nachweisbar sind.

Als Beispiele für Pyrazolverbindungen wurden Dimethylaminoantipyrin, Butazolidin-Na (3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-N-butylpyrazolidin) und Irgapyrin, eine Mischung aus gleichen Teilen der genannten Präparate herangezogen. Als Antihistamine wurden Antergan, Neoantergan, Benadryl, Phenergan und Synopen (N-dimethylaminoäthyl-N-p-chlorbenzyl-α-aminopyridin-HCl) berücksichtigt.

Die Untersuchung zeigt, daß die histamin-antagonistische Wirkung bei beiden Körperklassen je nach Versuchsanordnung sehr verschieden ist. Im klassischen Experiment am isolierten Meerschweinchendarm sind die Pyrazole den AH deutlich unterlegen. Überraschenderweise ist die als Irgapyrin bezeichnete Kombination wesentlich wirksamer als ihre beiden Komponenten. Auch im sogenannten Histaminentgiftungsversuch in vivo läßt sich ein deutlicher Antagonismus nachweisen, sofern die Pyrazole subkutan verabreicht werden; bei Applikation als Aerosole waren die Pyrazole ohne Wirkung.

In besonders auffallender Weise tritt die Antihistaminwirkung der Pyrazole am Kaninchenohr nach Krakow-Pissemski zutage, wo diese Verbindungen in gleichen Dosen bzw. Konzentrationen wirksam sind wie die sogenannten AH.

Pyrazole und AH zeigen noch eine weitere gemeinsame Eigenschaft, die auch für die therapeutische Wirkung dieser Präparate von Bedeutung sein dürfte. Alle AH beeinflussen die Funktion der Kapillarwand, und zwar sowohl die im Saugglockenversuch meßbare (Methode von Zacho) Kapillarfragilität als auch die Kapillarpermeabilität. Interessanterweise

zeigen auch die Pyrazole eine ähnliche Wirkung, und zwar schon in gleichniedrigen Dosen wie die Antihistamine. Bei i. p.-Gaben von 1 mg/kg Meerschweinchen steigt bei allen untersuchten Produkten die Kapillarresistenz. Im Falle der Pyrazole nimmt diese Wirkung allerdings nach 120 min wieder ab, doch lassen sich mit größeren Dosen länger anhaltende Effekte erzielen.

Diese Ergebnisse verdienen Interesse, weil sie für die Pyrazole periphere Wirkungsmöglichkeiten nahelegen, die wahrscheinlich auch bei der therapeutischen Anwendung dieser Produkte als Antiphlogistika eine wichtige Rolle spielen, eine Auffassung, die im übrigen auch schon von anderen Autoren ausgesprochen wurde.

G. Wilhelmi und R. Domenjoz (Basel): Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Pyrazolen und Antihistaminen bei verschiedenen Arten der experimentellen Entzündung.

Die teils aus der Literatur, teils aus eigenen Experimenten bekannte histaminantagonistische, resistenzerhöhende und abdichtende Wirkung der Antihistamine und Pyrazole gab den Anlaß, den antiphlogistischen Effekt der beiden Verbindungsklassen am Tier an verschiedenen Entzündungsarten vergleichend zu untersuchen.

Als Vertreter der Pyrazolpräparate wurden das Dimethylaminoantipyrin, „Butazolidin-Natrium" (3,5-Dioxo-1,2-diphenyl-4-n-butylpyrazolidin Natrium), Irgapyrin, ein Gemisch von beiden, sowie Novalgin und von den Antihistaminen Synopen (N-Dimethylaminoäthyl-N-p-chlorbenzyl-α-aminopyridin-Hydrochlorid) und Neoantergan zu den pharmakologischen Versuchen herangezogen.

Gegenüber der *Histaminquaddel* am Meerschweinchen erwiesen sich die Pyrazole als völlig unwirksam, während die Antihistamine hier hochaktiv waren. Gerade umgekehrt verhielten sich die beiden Präparatgruppen hinsichtlich der prophylaktischen und kurativen Beeinflussung des *Ultravioletlicht-Erythems* am Meerschweinchen, wo die Pyrazolpräparate, und besonders „Butazolidin-Na", die Rötung der Haut schon in kleinen Dosen zu unterdrücken vermochten.

Weniger ausgeprägt waren die Unterschiede bei der Behandlung der Krotonölentzündung, deren vorwiegend mit Hyperämie einhergehendes Anfangsstadium etwas besser durch geeignete Pyrazolpräparate zu beeinflussen ist. Die Intensität der antiphlogistischen Wirkung konnte an der Verzögung der Trypanblau-Ausscheidung in eine durch Krotonölbenetzung entzündlich veränderte Ohrmuschel der Maus festgestellt werden. Gegenüber dem fortgeschrittenen, durch starke Ödembildung charakterisierten Stadium der Krotonölentzündung, wie wir es am Kaninchenohr in vivo beobachteten, erwies sich das geprüfte Anti-

histamin (Synopen) im Vergleich zu den Pyrazolen als wirksamer. Bei dieser Versuchsanordnung wurde der Grad der Ödembildung durch die Bestimmung des Flüssigkeitsgehaltes der isolierten Ohren bestimmt.

Ähnlich lagen die Verhältnisse bei der Beeinflussung der nach dem Verfahren von Selye erzeugten Pfotenschwellung durch intraperitoneale Injektion von Hühnereiweiß an der Ratte. Hier schien der antiphlogistische Effekt mit der Intensität der Antihistaminwirkung parallel zu gehen, so daß sich die Pyrazole dementsprechend als schwächer wirksam erwiesen.

Bei der modifizierten Methode, wo ein lokales Ödem durch subkutane Injektion von Eiweißlösung in eine Rattenpfote erzeugt wird, klingt die Entzündung bei den mit Dimethylaminoantipyrin behandelten Tieren am schnellsten ab.

Wie aus der Literatur bekannt ist, erwiesen sich somit auch in unseren Versuchen die Antihistamine gegenüber den vorwiegend mit Erythem einhergehenden Entzündungsarten, wie dem U. V.-Lichterythem des Meerschweinchens und der beginnenden Krotonölentzündung der Maus als schwach oder gar nicht wirksam.

Gegenüber den mit starker Ödembildung oder Nekrosen einhergehenden Entzündungsarten wie der fortgeschrittenen Krotonöl- und Hühnereiweißentzündung, sowie der U. V.-Lichtreizung der Rattenhaut übertrafen die Antihistamine die Pyrazole an Wirksamkeit.

Obwohl bei allen geprüften Entzündungsarten Histamin sicher eine Rolle spielt, geht doch der antiphlogistische Effekt der geprüften Pharmaka, außer beim Rattenpfotenödem durch Eiweiß und der Histaminquaddel, offensichtlich nicht mit der histaminantagonistischen Wirkung parallel, wofür die Tatsache spricht, daß die geprüften Präparate auch bei den wenig histaminempfindlichen Mäusen und Ratten wirksam sind.

Wie der Versuch der Trypanblauausscheidung in das normale und entzündlich veränderte Ohr der Maus und dessen Beeinflussung durch die genannten Präparate zeigt, entspricht deren antiphlogistischer Effekt oft nicht der allgemeinen permeabilitätsvermindernden Wirkung.

Diskussion. Eichholtz beschreibt die kapillarabdichtende Wirkung von Salizylsäure und p-Amino-Salizylsäure und Tb I 698. Die Wirkung verläuft möglicherweise über die Nebennierenrinde.

Lindner führt hierzu noch an, daß die p-Amino-salizyl-sauren Salze der meisten Antihistaminika eine wesentlich verstärkte Wirkung gegenüber den anderen Salzen aufweisen, und zwar am Histaminasthma des Meerschweinchens und am Histaminspasmus des Meerschweinchendickdarms.

Nach Haas ist im Brennesselgift neben Histamin und Azetylcholin noch Natriumformiat enthalten, welches die Wirkung des Brennesselgiftes gegenüber Antihistaminika unwirksam macht.

Ther weist darauf hin, daß das Hühnereiweißödem auch durch andere Stoffe, wie z. B. Propylenglykol, Glyzerin und Harnstoff, verhindert werden kann; dieser Test sei also nicht spezifisch für Antihistaminwirkungen.

Lendle fand in Versuchen am Ohrgefäß eine stärkere Wirkung des Pyramidons auf Histamin als auf Adrenalin. Vielleicht erklärt sich daraus die schmerzlindernde Wirkung des Pyramidons bei der Migräne.

Siess: Die anaphylaktische Serumkontraktion des isolierten Meerschweinchendarmes wird durch dieselbe Konzentration Antistin (10^{-7}) unterdrückt wie die Histaminkontraktion, die entsprechende Azetylcholinwirkung dagegen erst durch 10^{-3} Antistin. Umgekehrt wird die letztere von Atropin bei 10^{-7}, die beiden ersten bei 10^{-4} und 10^{-3} verhindert. Alle drei Kontraktionsarten werden ohne spezifische Bevorzugung durch Adrenalin, Ephedrin, Aludrin, Novocain und Urethan erst in Konzentrationen aufgehoben, die bereits eine darmhemmende Eigenwirkung zeigen. Auch am lebenden Meerschweinchen wird der anaphylaktische und der durch i. p. Injektion von Histamin erzeugte Bronchospasmus nur durch Antistin völlig unterdrückt, nicht aber durch Atropin, Ephedrin, Aludrin, Novocain und Urethan. Diese Stoffe vermögen lediglich den letalen Ausgang hintanzuhalten.

F. Heim (Marburg): Über die Beziehungen zwischen pharmakologischen Wirkungen und dem fermentativen Abbau mehrerer Lokalanästhetika.

Die Aminoxydase aus Meerschweinchenleber und -niere, ein Ferment, das Adrenalin und adrenalinähnlich gebaute Körper an der Seitenkette desaminiert und oxydiert, wird durch Pantocain, Novocain, Anästhesin und in geringem Grade auch durch Kokain gehemmt. Die hydrolytischen Spaltprodukte der genannten Ester sind in den Estern isomolaren Konzentrationen angewandt wenig oder gar nicht wirksam. Der Benzoesäureester des Dimethylaminoäthanols ist ohne Hemmungswirkung, der Paraaminobenzoesäureester besitzt eine mittlere und der Butylaminobenzoesäureester des gleichen Alkohols eine sehr starke Hemmungswirkung. Da Novocain und Pantocain, wesentlich weniger dagegen Anästhesin, durch Leberextrakte fermentativ hydrolysiert werden, verlieren sie damit auch ihre aminoxydasehemmende Wirksamkeit. Pantocain, Novocain und Anästhesin besitzen, Nierenextrakten zugesetzt, eine sehr lange fermenthemmende Wirkung, da die Fähigkeit der Niere, diese Ester zu hydrolysieren, sehr gering ist.

Durch die fermentative Hydrolyse verlieren die genannten Lokalanästhetika die Eigenschaft der Unterbrechung der Erregungsleitung im Nerv. Pantocain wird z. B. durch Meerschweinchenleberextrakte 25mal rascher unwirksam als durch Nierenextrakte. Extrakte aus Muskulatur und Gehirn erwiesen sich als fast wirkungslos.

Es wurde für mehrere Ester gezeigt, daß zwischen ihrer chemischen Konstitution, ihrer pharmakologischen, insbesondere fermenthemmenden Wirkung und ihrem enzymatischen Abbau enge Beziehungen bestehen.

Diskussion. Soehring: Die summarische Feststellung, wonach „Muskeln“ kein Novocain spalten, wird unter Hinweis auf frühere eigene Untersuchungen bestritten. Es ist möglich, daß der Unterschied der Befunde in der Tatsache

begründet ist, daß der Vortragende im Gegensatz zu den früheren Versuchen mit Muskelextrakten, nicht mit intakten isolierten Organen gearbeitet hat.

Muschawek erwähnt eigene Versuchsergebnisse, nach denen die Spaltprodukte von Lokalanästhetika antagonistisch auf die durch Lokalanästhetika bewirkten Krämpfe wirken.

R. Taugner (Heidelberg): Über eine optimale Tyrodelösung für das doppelte Zwerchfell-Phrenicus-Präparat (von Ratte und Maus).

Das nach Bülbring isolierte Zwerchfell der Ratte ist ein sehr empfindliches Versuchsobjekt. Der prinzipielle Vorteil des doppelten Zwerchfell-Phrenicus-Präparats besteht in der Möglichkeit einer fortlaufenden Kontrolle durch die zweite Zwerchfellhälfte. Darüber hinaus ist aber die Herstellung einer optimalen Lösung von Bedeutung. Es wurde daher geprüft, ob die übliche Tyrodelösung diesen Anforderungen genügen kann.

Ein Grund zur Veränderung der üblichen NaCl- und $CaCl_2$-Konzentrationen liegt nicht vor. $MgCl_2$ ist für das isolierte Zwerchfell überflüssig. Auch Natriumbikarbonat und Natriumphosphat sind entbehrlich. Die Wirkung von p_H-Veränderungen wird im einzelnen noch geprüft.

Die optimale K^+-Konzentration liegt nach unseren Versuchen bei etwa 20 mg%. In K^+-freier Lösung tritt (offenbar durch zunehmende K^+-Verarmung des tätigen Zwerchfells) vorzeitige Ermüdung ein, die durch Zusatz von 20 mg% K^+ wieder aufgehoben wird.

Glukoseentzug führt zu Kontraktur und beschleunigter Leistungsabnahme. Diese Kontraktur ist vom Fütterungszustand der Tiere abhängig und kommt bei hungernden Tieren auch in Gegenwart von 200 mg% Glukose vor. Bei der optimalen Konzentration von 250 mg% Glukose tritt keine Kontraktur mehr auf.

Auffällig ist der Zusammenhang zwischen Energiestoffwechsel und K^+-Ionen: Sind Zwerchfelle in Glukose- und K^+-freier Lösung vorzeitig erschöpft, so tritt weitgehende Erholung nur bei Herstellung der optimalen Glukose- *und* K^+-Konzentration ein. Die Wiederauffüllung des bei Muskeltätigkeit beanspruchten K^+-Vorrats der Fasern benötigt offenbar Glukose zur Deckung des Energieaufwands.

Bei dieser Versuchsanordnung läßt sich Glukose durch Natriumlaktat und Brenztraubensäure annähernd vollwertig ersetzen. Dagegen waren Glykogen, Maltose, Lävulose, Galaktose, Arabinose, Ribose, Glyzerinaldehyd, Glyzerin und Äthylalkohol in dieser Hinsicht unwirksam.

Nach diesen Versuchen hat eine Tyrodelösung folgender Zusammensetzung: NaCl 0,8%, KCl 0,04%, $CaCl_2$ 0,02%, Glukose 0,25% als optimal zu gelten.

U. Stave und K. Soehring (Hamburg): Das Phrenicus-Zwerchfell-Präparat nach Buelbring als pharmakologisches Testobjekt*.

In Ergänzung zu der von Bülbring 1946 angegebenen Versuchsanordnung mit dem Phrenicus-Zwerchfell-Präparat (Ph-Z-Pr.) der Ratte wird an Hand einer schematischen Übersicht eine Methode erläutert, die es mit Hilfe einer elektrischen Membranpumpe und eines Schrittschalters ermöglicht, den Badwechsel mit definierter Intensität und in variablen Zeitabständen zu betätigen. Im weiteren wurden die Fehlerquellen der Methode eruiert, die u. a. wichtige Einblicke in die Stoffwechselbedingungen des Präparates ermöglichen. Gegen Glukoseentzug für die Dauer von 10 min sowie gegen kurzfristigen Sauerstoffmangel ist das Präparat bemerkenswert resistent. Nach den bisherigen Untersuchungen hat sich ergeben, daß Änderungen der Hubhöhe im allgemeinen auf ein Angreifen der Pharmaka am Nerven, Tonusänderungen auf Effekte an der Muskelfaser hinweisen.

Den von Soehring, Frahm und Loeffler durchgeführten Untersuchungen am m. rectus abd. des Frosches mit Novocain und Diäthylaminoäthanol (DA) werden die Effekte dieser Substanzen am Ph-Z-Pr. ergänzend gegenübergestellt. Während DA am Ph-Z-Pr. in dem fraglichen Konzentrationsbereich wirkungslos war, zeigte Novocain bei einer mol. Konz. von 10^{-4} bis 10^{-3} eine Hubhöhenabnahme und schließlich Lähmung bei unverändertem Tonus. Die Novocainwirkungen am Froschrektus und Ph-Z-Pr. stimmen also überein; es handelt sich um Erregbarkeitsherabsetzungen. Werden die mit DA gewonnenen Ergebnisse unter dem Aspekt der unterschiedlichen Ansprechbarkeit tonischer und nichttonischer Muskeln auf Azetylcholin betrachtet, so wird eine gleichsinnige Aktion von Azetylcholin und DA deutlich.

K. Soehring (Hamburg): Über einige neue Stoffe mit lokalanalgetischer Wirkung mit Bemerkungen zur Theorie der Lokalanalgesie.

Ein Gemisch höherer Alkyl-Polyglykoläther, dessen pharmazeutische Verwendbarkeit kürzlich von Schöller beschrieben wurde, hebt auf der Schleimhaut in wäßriger Lösung die Schmerzempfindung auf. Das als „Sch 600" bezeichnete Präparat wird am Kaninchenauge mit Hilfe eines bisher nicht beschriebenen Verfahrens, im Quaddeltest an der Meerschweinchenhaut nach Bülbring und Wajda, sowie mit dem von Becher und Soehring angegebenen Lidschlußtest beim Kaninchen ausgewertet. 1%ige Lösungen sind an der Hornhaut nicht so wirksam wie Pantocain, während im Quaddeltest 0,1% „Sch 600" der gleichen Konzentration an Novocain überlegen sind. Die Infiltration mit 2%igen

* Ausführliche Veröffentlichung erfolgt im Arch. internat. Pharmacodynamie.

Lösungen „Sch 600" bzw. Novocain an der Ohrwurzel verhindert den gleichseitigen Lidschluß bei elektrischer Reizung an der Ohrmuschel. „Sch 600" zeigt hier eine wesentlich länger anhaltende Wirkung als Novocain. Die mehrfach bestimmte akute *Toxizität* ergab im 2-Std-Versuch eine LD_{50} von rund 3,9g/kg; für die gleiche Mäuselieferung lag die LD_{50} für Novocain bei 0,49 g. Im Gegensatz zu Novocain gibt es eine Spättoxizität: Der Wert für die LD_{50} im 48-Std-Versuch lag bei 1,45 g/kg. Dies läßt sich durch Narkose und Auskühlung erklären. Sämtliche Dosen gelten für subkutane Applikation. —

Mit Hilfe der Molekulardestillation und anderer Verfahren gelang es der Badischen Anilin- und Sodafabrik (Dr. Schöller und Mitarbeiter), das Gemisch weiter aufzuspalten. Hierbei erhielten wir zunächst 3 Fraktionen mit den mittleren Molekulargewichten 394, 492 und 535 (bez. als Sch. 394, Sch. 492, Sch. 535). Es ergab sich eindeutig ein Zusammenhang zwischen der lokalanalgetischen Wirkung und der Größe des Moleküls: sowohl nach Bülbring und Wajda als auch in dem von uns durchgeführten Test am Kaninchenauge ließ sich zeigen, daß von den bisher untersuchten Stoffen Sch. 535 die größte Wirkung hatte. In Versuchen an Hefe und an B. coli fand unser Mitarbeiter Schulz die gleiche Reihenfolge, wenn die O_2-Verbrauchssteigerung nach Druckrey bzw. in höheren Konzentrationsbereichen die Atmungs- und Gärungshemmung in der Warburg-Apparatur gemessen wurde. —

Die untersuchten Stoffe sind stickstoff-freie aliphatische Verbindungen, die in der Textilindustrie als nichtionogene Netzmittel bekannt sind. Sie sind also hydrophil-lipophil polare Moleküle, die mit Ionen in beschränktem Umfang in Wechselwirkung treten können. Sie neigen mit wachsender Konzentration zur Mizellarbildung, so daß ein gradliniger Verlauf der Konzentrations-Wirkungskurve nicht zu erwarten ist. — Für die pharmakologische Wirkung maßgebend ist neben bestimmten noch nicht voll festgelegten Optima in den Größenverhältnissen des hydrophilen zum lipophilen Molekülteil vor allem ein optimaler Konzentrationsbereich, bei dem alle wirksamen Haftstellen des Moleküls mit den biologischen Membranen zur Wirkung kommen. Wieweit die von Fleckenstein aufgestellte Hypothese über die Wirkungsweise der Lokalanästhetika auch auf unsere Befunde zutrifft, bedarf noch weiterer Untersuchung.

Diskussion. G. Herrnring (Hamburg): Die von Soehring untersuchten Stoffe aus der Gruppe der Polyäthylenoxydäther zeigten in den Konzentrationen von 10^{-5}—10^{-6} mol pro Liter, variierend mit dem Molekulargewicht, am Phrenikus-Zwerchfell-Präparat Tonussenkung ohne wesentliche Beeinflussung der Hubhöhe (Stave). Dieser streng konzentrationsabhängige Effekt gab Veranlassung dazu, nach physikalisch-chemischen Variablen zu suchen, die in dem gleichen Konzentrationsgebiet Besonderheiten aufweisen. In dem Konzentrationsbereich von 10^{-4}

bis 10^{-5} molar liegt der Anstieg der Oberflächenspannung von der mit dem Stoff vollbesetzten Oberfläche zu der des Wassers. Ferner vermindert der Zusatz des Polymeren die Leitfähigkeit von Magnesiumchlorid bei Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-5}. Man kann annehmen, daß unter diesen Bedingungen ein kationaktives Polyoxoniumsalz vorliegt.

H. Druckrey (Freiburg): Chemische Konstitution und Wirkung von östrogenen und cancerogenen Substanzen.

Die Heterogenität der verschiedenen organischen cancerogenen Substanzen läßt erkennen, daß für diese Wirkung nicht die chemische Konstitution der Grundmoleküle wesentlich sein kann, sondern wahrscheinlich ihre physikalischen Eigenschaften. Damit ergeben sich Beziehungen zu den Farbstoffen. Ähnlich, wie bei Farbstoffen bestimmte Substituenten eine auxochrome Wirkung grundsätzlich an allen chromophoren Grundsubstanzen haben, haben auch bei allen cancerogenen Substanzen die gleichen Substituenten eine wirkungsverstärkende „auxocancerogene" Eigenschaft, wie z. B. die Amino- oder Methylgruppe, während die „cancerophoren" Grundmoleküle chemisch durchaus heterogen sind.

Ausgehend von der Tatsache, daß die 4-amino-Verbindung des chromophoren Stilbens *cancerogen* wirksam ist, seine 4,4′-dioxy-Verbindung dagegen *östrogen*, wird untersucht, ob für die Östrogene ähnliche Verhältnisse zutreffen, wie für die Cancerogene, d. h. ob auch hier die Natur der „phoren" Grundmoleküle unspezifisch ist. Dies Prinzip erweist sich als richtig. Hiernach ließ sich die östrogene Wirksamkeit einer Reihe von *dioxy*-Verbindungen der wichtigsten Chromophore voraussagen und experimentell nachweisen. Es ergibt sich damit, daß dioxy-Verbindungen z. B. vom Diphenyl, Triphenylmethan, Anthrazen, Azobenzol und Stilben östrogen sind, bestimmte *Amine* von diesen Substanzen dagegen cancerogen. Die Art der biologischen Wirkung wird daher hier durch die Natur der spezifischen Substituenten bestimmt, die vielleicht als „Haft"- oder „Wirkgruppe" im Sinne von P. Ehrlich funktionieren, während die chemische Konstitution der Grundmoleküle eine erstaunliche Unspezifität zeigt.

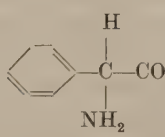
Diskussion. Taubmann fragt an, ob die Oxyverbindungen durchgehend nur östrogen, die Aminoverbindungen nur cancerogen sind.

Antwort von Druckrey: Nach eigenen Untersuchungen ist das reine 3,4-Benzpyren selbst in hoher Dosis nicht östrogen wirksam. Beim angeblich cancerogen und östrogen wirksamen 9,10-dioxy-dialkyl-1,2,5,6-Dibenzanthrazen ist es wahrscheinlich, daß seine cancerogene Wirksamkeit durch Verunreinigung mit dem Kohlenwasserstoff z. B. 9,10-dialkyl-1,2,5,5-Dibenzanthrazen bedingt ist, denn für die cancerogene Wirkung genügen Spuren der Substanz in der Größenordnung von 1 γ.

N. Brock (Bielefeld):

Auf Grund der Beobachtung von Macht über die spasmolytische Wirkung des Mandelsäureäthylesters prüften wir die homologe Reihe der aliphatischen Ester der Mandelsäure am isolierten Meerschweinchendarm (Magnus). Die spasmolytische Wirkung nimmt mit der Zahl der C-Atome in der Esterkomponente zu, das Wirkungsmaximum liegt beim Heptylester. Die Spasmolyse beruht auf einer Lähmung der glatten Muskulatur (papaverinähnlich), eine anticholinergische Komponente (atropinähnlich) fehlt dagegen. Die Wirksamkeit ist relativ schwach (Heptylester etwa ein Viertel der Papaverinwirkung). Darüber hinaus ist die ganze Verbindungsreihe wasserunlöslich (Hydroxyl als einzige funktionelle Gruppe). Auf Grund des Studiums von Konstitution und Wirkung versuchten wir, von diesen Untersuchungen ausgehend, zu wasserlöslichen Verbindungen mit kombinierter (muskulärer und anticholinergischer) Wirksamkeit zu gelangen. Durch Einführung der Aminogruppe in den aromatischen Kern kamen wir zu Verbindungen vom Typ der m-Amino-mandelsäure- und der p-Amino-phenylessigsäureester, die aber beide zu instabil, deren Hydrochloride zu stark sauer waren. Dagegen erwiesen sich die Ester der Phenyl-α-aminoessigsäure (Aminogruppe an Stelle der Hydroxylgruppe der Mandelsäure) als gute Grundlage zu weiteren Synthesen. In der homologen aliphatischen Esterreihe nehmen die spasmolytischen Eigenschaften bis zu einem Höhepunkt bei C 7 (cholinergisch) und C 8 (muskulär) zu (Tabelle 1). Durch Konden-

Tabelle 1.



Phenyl-α-aminoessigsäureester.

R=	Doryl 10^{-7} gegen Atropin(=1)	$BaCl_2$ 4×10^{-4} gegen Papaverin(=1)	Histamin 10^{-7} gegen Papaverin(=1)
C_2H_5	1:30000	1:150	1:40
C_3H_7	1:12000	1: 50	1:25
C_4H_9	1: 6000	1: 15	1:10
C_5H_{11}	1: 1200	1: 6	1: 4
C_6H_{13}	1: 800	1: 5	1: 2,5
C_7H_{15}	1: 110	1: 2	1: 2,5
C_8H_{17}	1: 650	1: 1	1: 2,5

sation der NH_2-Gruppe mit Diäthylaminoäthylchlorid tritt eine entscheidende Veränderung des Wirkungsbildes auf, die wir am Isoamylester der Phenyl-α-aminoessigsäure eingehender prüften. Bei dieser Verbindung ist die muskulär lähmende Wirkung nach der Kondensation

mit Diäthylaminoäthylchlorid vierfach stärker als zuvor. Darüber hinaus weist das Kondensationsprodukt eine starke anticholinergische Wirkung auf (Tabelle 2). Unter Ausbau der Methodik am Ganztier wurden

Tabelle 2.

Meerschweinchen-Ileum	Doryl 10^{-7} gegen Atropin(=1)	$BaCl_2$ 4×10^{-4} gegen Papaverin(=1)	Histamin 10^{-7} gegen Papaverin(=1)
1-Methyl-4-phenyl-piperidin-carbonsäure-äthylester („Dolantin") . . .	1:100	1:2	1:0,15
Hexahydro-diphenylessigsäure-diäthylamino-äthanolester („Trasentin")	1: 20	1:1	1:1
α-n-Propyl-phenylessigsäure-diäthylamino-äthanolester („Propivan") .	1: 20 1: 60	1:1 1:3	1:0,5* 1:1**
Phenyl-diäthylaminoäthyl-α-amino-essigsäure-isoamylester („Subst. 751")	1: 7	1:1	1:1

* Produkt eigener Synthese.
** Ampullenpräparat des Handels.

die spasmolytischen Fähigkeiten gegen Atropin und Papaverin quantitativ ausgewertet und in Beziehung zu den allgemeinen pharmakologischen und toxischen Wirkungen gesetzt. Der spasmolytische Effekt erwies sich bei dem kondensierten Ester besonders stark, während die übrigen Wirkungen am cholinergischen System (Kreislauf, Speicheldrüse, Pupille) zurücktraten. Die Toxizität des Stoffes ist gering (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Maus	DL 50 i. v.	40,0 mg/kg (+ 2,0) (— 2,0)	(1 min Injektionsdauer)
	DL 50 i. m.	360,0 mg/kg (+ 60,0) (— 60,0)	
	DL 50 oral	760,0 mg/kg (+ 70,0) (— 80,0)	

Der Tod tritt unter Krämpfen durch Atemstillstand ein. Die allgemeinen pharmakologischen Daten liegen sowohl im akuten wie im chronischen Versuch günstig. Wie es auf Grund der chemischen Konstitution zu erwarten war, verfügt der Ester über eine beachtliche lokalanästhetische Wirkung.

H. Wick (Ingelheim): Untersuchungen am isolierten Trachealring des Hundes.

Nach dem Tode von Versuchshunden wird die Trachea herausgenommen und in physiologischer Kochsalzlösung auf Eis aufbewahrt.

An den folgenden Tagen wird ein Ring von der Breite einer Knorpelspange herausgeschnitten, gegenüber der Pars membranacea aufgeschnitten, die Schleimhaut über der Pars muscularis durchtrennt und das so erhaltene Präparat in körperwarmer Locke-Ringerlösung bei Luftdurchperlung suspendiert. Die Schleimhaut wird durchtrennt, um die Hebelbelastung lediglich auf die Muskulatur einwirken zu lassen und um die Exkursionsmöglichkeiten der Muskulatur zu erhöhen. Dieses Trachealpräparat kann man durch kleine Pilocarpindosen (10^{-5} bis 10^{-8}) nach einer Latenz von einigen Minuten zu Eigenrhythmen anregen, ohne daß der Tonus ansteigt. Die rhythmischen Kontraktionen finden etwa alle ½—3 min statt, oft in auffallender Regelmäßigkeit. Auch durch Azetylcholin kann man dieses Präparat zu Eigenbewegungen anregen, jedoch besteht die erste Wirkung, die das Azetylcholin zeigt, immer in einem Tonusanstieg, an den sich später der Eigenrhythmus anschließt. Wie Azetylcholin wirken auch Eserin und Arecolin. Atropin und Scopolamin (10^{-5} bis 10^{-7}) hemmen den Rhythmus und senken den Tonus. Ähnlich wirken Adrenalin und Aludrin in hohen Dosen (10^{-4}). n-Butylscopolaminbromid = Buscopin, eine quarternäre Scopolaminverbindung, hemmt nur den Rhythmus ohne nennenswerte Tonusbeeinflussung.

Außer Darm, Uterus u. ä. kann also auch der Trachealring zu Eigenrhythmen angeregt werden. Es wird angenommen, daß, in Analogie zum Auerbachschen und Meissnerschen Plexus des Darmes, der enchondrale und perichondrale Nervenzellplexus (Larsell) für diese Bewegungsform verantwortlich ist. Dieser Zellplexus, der dicht an den Knorpeln gelegen ist, wird zweifellos durch die Entfernung der Bronchialknorpel bei der Herstellung des Bronchialstreifenpräparates nach Trendelenburg irreversibel geschädigt. Daher ist bei dieser Art von Präparaten ein Eigenrhythmus nie beobachtet worden.

Das oben beschriebene Präparat hat offenbar keine Tendenz zu Spontanaktivität, läßt sich aber durch Pharmaka wie Pilocarpin und Azetylcholin leicht zu Eigenrhythmen, oft noch 7 Tage nach dem Tod des Versuchstieres anregen. Vermutlich sind diese Bewegungen die in-vitro-Parallele zu den atemsynchronen Kaliberschwankungen (Erweiterung der Bronchien und Trachea bei Einatmung und Verengerung bei der Ausatmung), über die Heinbecker und Huizinga berichtet haben. Zur pharmakologischen Auswertung von Substanzen mit broncholytischer Wirksamkeit ist dieses Präparat ungeeignet, da quantitatives Arbeiten schwierig und zeitraubend ist, und vor allem die reflektorische Beeinflussung der Bronchialweite, über die später berichtet wird, unberücksichtigt bleibt. Zur Teilanalyse von Pharmaka bezüglich ihrer Wirkung auf Tonus und Rhythmus, ganglionäre Erregung usw. ist aber dieses Präparat sehr geeignet, da es sich hier nur um Exkursionen von glatten Muskelfasern einer Richtung handelt, die durch Innen-

druckschwankungen des Organs wie bei Darm und Uterus nicht beeinflußt werden.

(Die Arbeit wird in ausführlicher Form an das Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie eingereicht.)

Diskussion. Lullies weist auf die ausgezeichnete Übereinstimmung hin, die das Verhalten des isolierten Trachelarings des Hundes mit dem der glatten Muskulatur der Froschlunge zeigt. Diese kann ebenfalls durch die verschiedenen cholinergischen Pharmaka in ihrer rhythmischen Tätigkeit stark beeinflußt werden. Daß das Warmblüterpräparat noch tagelang nach der Entnahme rhythmisch tätig sein kann, spräche dafür, daß nervöse Elemente bei der Entstehung der Rhythmen keine entscheidende Rolle spielen.

H.-H. Schneider (Göttingen): Überwachung der Kurarelähmung durch Messung der Erregbarkeit an peripheren Nerven.

In der modernen Chirurgie wird bei der kombinierten Lachgasnarkose die Kuraredosierung ohne messende Überwachung allein nach Wirkung gesteuert. Eine quantitative Überwachung des Kurarinanteils schien daher wünschenswert, um Überdosierungen mit ihren zum Teil schwerwiegenden Folgen (Kreislaufkollaps) vermeiden zu können.

Wir führten fortlaufende Messungen der Muskelerregbarkeit (vollständige Reizzeitspannungskurven) bei Reizung des zugehörigen motorischen und sensiblen Nerven (Reflexbewegungen) durch. Die Reizung erfolgte mit einem Röhrengerät „Megatest" von W. Kroebel-Kiel, das rechteckige Stromstöße verschiedener Frequenz, Stromstärke und Impulsdauer liefert. Die Untersuchungen wurden an Fröschen (Rana esculenta), Kaninchen mit einem Drittel der vollnarkotischen Urethandosis und dekortizierten Katzen mit d-Tubokurarinchlorid der Fa. Hamburger Arzneimittelfabrik Dr. Remy ausgeführt.

Bei Kombination von Kurare mit Narkose war die Kurarinwirkung deutlich verstärkt. Für eine gleichmäßige Dosierung, unabhängig von der Elimination sorgte die Perfusion am Frosch und die Dauerinfusion am Warmblüter. Die Eliminationsgeschwindigkeit des Kurarins betrug für Kaninchen 1 Einheit pro Kilogramm und Stunde und für Katzen 2—3 Einheiten pro Kilogramm und Stunde. (Für Menschen berechneten andere Autoren 1,7 Einheiten pro Kilogramm und Stunde.)

Es wurde eine ältere Beobachtung von Vulpian, auf die Lapique neuerdings aufmerksam machte, ohne selbst eine Erklärung geben zu können, bestätigt: Bei voller Lähmung des Versuchstieres (einschließlich Atmung!) auch bei Schmerzreizen blieb die Reizzeitspannungskurve bei Reizung des motorischen Nerven normal. Die zur Erzielung von Reflexen nötige Stromstärke bei Reizung vom sensiblen Nerven aus war erhöht. Offenbar werden also Bewegungen durch den natürlichen Nerven-

impuls unmöglich, nicht dagegen bei elektrischer Reizung des motorischen Nerven. Besonders bevorzugte Frequenzbereiche konnten wir nicht feststellen.

Für praktische Zwecke erscheint die Einteilung der Kurarelähmung in Stadien möglich:

1. Headdropstadium bei noch erhaltener Willkürbewegung,

2. aufgehobene Willkürbewegung bei erhaltener elektrischer Erregbarkeit,

3. Lähmung auch für elektrische Nervenreize.

Bei einer leichten, nicht vollständigen Kurarelähmung ist also eine Überwachung durch Messung der Muskelerregbarkeit bei Nervenreizung nicht möglich. Man kann mit dieser Methode lediglich feststellen, daß dabei eine Überdosierung von Kurarin mit Sicherheit nicht vorliegt, da eine komplette Lähmung noch nicht besteht.

Bei Untersuchungen an Patienten, die Prof. Lezius-Lübeck unter Beigabe von Kurare operierte, zeigte sich das gleiche Bild: Die Kurarelähmung, die zur Ausführung der Operation vollkommen genügte, war nur so flach, daß eine elektrische Reizung des Peronäusnerven stets noch Zuckungen der Fußmuskulatur auslöste. Neuerdings soll aber die Kurarelähmung wesentlich tiefer gehalten werden bei gleichzeitig flacherer Narkose. Damit wäre die Voraussetzung zur Überwachung mit obiger Methode gegeben, jedoch würde man auf diese Weise nur eine zu geringe, nicht aber eine Überdosierung von Kurare feststellen können.

Wichtiger erscheint uns dann aber auch die Prüfung der flachgehaltenen Narkose bei tiefer Kuraresierung. Dies hoffen wir mit dem galvanischen Hautreflex nach Veraguth durchführen zu können, der wohl durch Narkose, nicht aber durch Kurare unterdrückt wird. Vorversuche zeigten die Brauchbarkeit der Methode bei reiner Narkose ohne Kurare, so daß ihre Überwachung bei Kurarelähmungen mit dem galvanischen Hautreflex erfolgversprechend ist.

Diskussion. Schäfer erwähnt Selbstversuche seiner Mitarbeiter von Eiff und Gnüchtel, welche bei sehr hoher Kuraredosierung mit kompletter Lähmung eine Steigerung des Grundumsatzes fanden. Er hält es aber im Hinblick auf das Nichtbetroffensein der direkt erregbaren Motorik durch Kurare für möglich, daß unter Kurare auch tonische Innervationen des Stammhirns bestehen bleiben, welche den Stoffwechsel steigern.

Soehring fand bei Erregbarkeitsmessungen an motorischen Nerven und Muskeln während klinischer Kurare-Lachgas-Narkose, daß die Schwellenbestimmung in zwei Drittel der Fälle ausreicht, um die Notwendigkeit erneuter Kuraregaben vor dem Eintritt von Abwehrbewegungen festzustellen.

Druckrey warnt vor der Vorstellung, daß das Prostigmin besonders bei tiefer Kurarisierung ein zuverlässiges Antidot des Kurare sei.

Hildegard L. Marguth (Bad Nauheim): **Pharmakologische Untersuchungen an Kreislaufnerven.**

Mit 2 Textabbildungen.

Mittels elektrophysiologischer Untersuchungstechnik wurde an der narkotisierten Katze das Verhalten der Pressorezeptoren einerseits und der efferenten wie afferenten vagischen und sympathischen Herznerven andererseits unter veränderten Atmungs- und Kreislaufbedingungen geprüft. Besonders interessierte das vergleichsweise Reagieren des

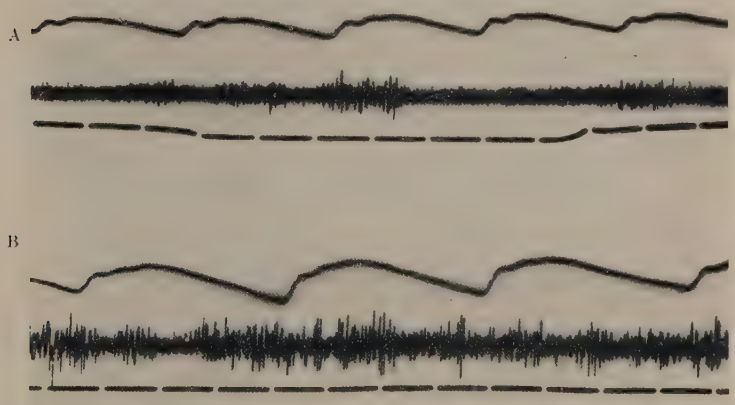


Abb. 1. Zunahme der Zahl, Frequenz und Amplitude der zentrifugalen Aktionsströme eines sympathischen, unteren Herznerven unter Asphyxie. — Obere Kurve: Karotisdruck, mittlere: Aktionsströme, untere unterbrochene Linie: Zeit in $^1/_6$ sec und Atmung (Inspiration entspricht einem Ausschlag nach oben). — A. Zentrifugale Aktionsströme bei einem mittleren Blutdruck von 70 mmHg. — B. Nach 20 sec Asphyxie.

Pressorezeptoren- wie des Herznerventonus bei Asphyxie, mechanischer Blutdruckerhöhung (Aortenklemme) und pharmakologischer Blutdrucksteigerung auf entsprechende Werte.

So stellt die *Asphyxie* (Abb. 1) einen generellen Reiz dar, denn sowohl der Pressorezeptoren- wie besonders der zentrale Vagus- und Sympathikustonus nehmen deutlich zu. Aber auch für die sensiblen Rückmeldungen der vagalen Herznerven ist die Asphyxie ein Maximalreiz, wie aus der Zunahme der Zahl, Amplitude und Frequenz der registrierten Aktionsströme ersichtlich wird.

Auch unter Trimethyl-trimethylen-triamin (Badische Anilin- und Sodafabriken) kommt es zu einer Steigerung der zentral-sympathischen Tonuslage.

Die afferenten, druckempfindlichen Fasern der Pressorezeptoren zeigen unter mechanischer und pharmakologischer Hypertonie die

bekannte klare Abhängigkeit von der Aorten- bzw. Karotis Druckkurve. Es ist hervorzuheben, daß im Aortennerven nicht nur afferente sondern auch efferente Fasern verlaufen, die keine sichere Abhängigkeit von Blutdruckveränderungen erkennen lassen.

Ein antagonistisches Verhalten zeigten die Kurven, die an Herznerven registriert wurden. Schicken wir als bekannt voraus, daß nach

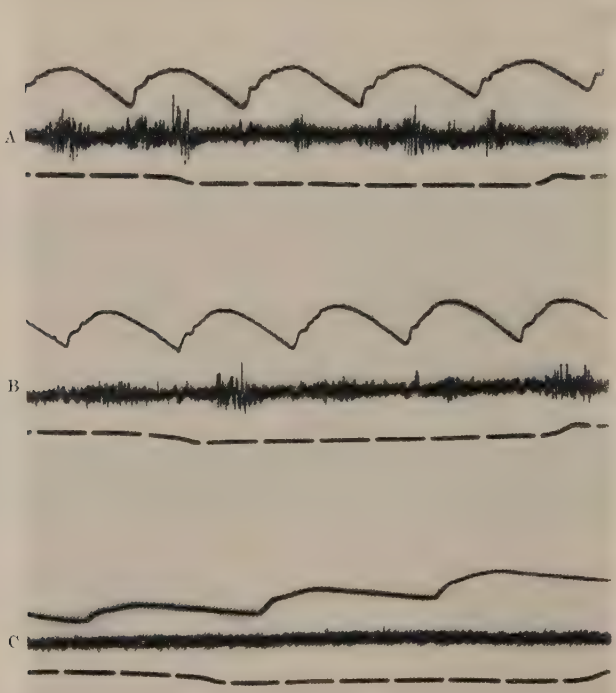


Abb. 2. Das Verhalten der zentrifugalen Aktionsströme eines unteren sympathischen Herznerven unter mechanischer und pharmakologischer Blutdruckerhöhung. — Kurven von oben nach unten: oben Karotispuls, Mitte Oszillogramm, unten Atmung und Zeit $^1/_6$ sec. — A. Zentrifugale Aktionsströme bei mittlerem Blutdruck von 110 mmHg. — B. Nach mechanischer Blutdruckerhöhung (Aortenklemme) RR 140 mmHg. C. Nach Adrenalin 30 γ RR 140 mmHg.

unseren früheren Untersuchungen die Blutdruckerhöhung über die efferenten und afferenten vagischen Herznerven zu einer erheblichen Steigerung des zentral-reflektorischen Vagotonus führt, während sie über die zentrifugalen, sympathischen eine sympathische Tonussenkung bewirkt (Bronk, Govaerts und Alexander), so konnten wir doch beim Vergleich der beiden Blutdrucksteigerungen einige Unterschiede bemerken. Bei allen untersuchten sympathischen zentripetalen und zentrifugalen Kreislaufnerven verschwinden die trägen Impulse bei steigendem Blut-

druck unter mittleren Suprarenindosen früher als bei analogen mechanisch erzeugten Blutdruckwerten (Abb. 2). Auch unter 925 Hoechst ist ein ähnliches Verhalten zu bemerken. Da wir so den Einfluß der impulshemmenden Blutdrucksteigerung an sich von der zusätzlich inhibitorischen Adrenalinwirkung trennen konnten, können wir feststellen, daß Suprarenin und seine Derivate an den sympathischen Kreislaufnerven eine spezifisch hemmende Wirkung ausüben. Der Einwand, daß dieser Effekt von einer Volumzunahme der zirkulierenden Blutmenge abhängt (Adrenalinhochdruck), konnte durch Injektion entsprechender Mengen von Ringerlösung entkräftet werden.

Daß Adrenalin und noch mehr Arterenol zu einer zentral-reflektorischen Erhöhung des Vagustonus führen, wurde früher schon von uns bewiesen.

Somit wird Adrenalin an den sympathischen Herznerven zu seinem eigenen Antagonisten und dämpft am narkotisierten Tier durch Erhöhung des Vagustonus und reziproke Hemmung des Sympathikotonus die kardiale, sympathikotone Adrenalinwirkung.

Literaturverzeichnis.

Bronk, D. W., L. K. Ferguson, R. Margaria, D. Y. Solandt: Amer. J. Physiol. **117**, 237 (1936). — Gouverts, J.: Arch. int. méd. expér. **11**, 629 (1936). — Alexander, R.: Amer. J. Physiol. **143**, 698 (1945). — Marguth, H. L., u. H. Schaefer: Tagung der deutschen physiologischen Gesellschaft 1949. Ber. ges. Physiol. **139**. 206 (1950).

H.-J. Schümann (Rostock): Artspezifische Unterschiede im Arterenolgehalt der Nebennieren.

Frühere Untersuchungen hatten ergeben, daß in Rinder- und Schweinenebennieren neben Adrenalin zu etwa 25% das entmethylierte Brenzkatechinderivat Arterenol oder Noradrenalin enthalten ist. In neueren Versuchen finden wir auch im Nebennierenmark von Hund, Katze und Frosch einen beträchtlichen Arterenolgehalt, nämlich 30 bis 60%, im menschlichen Nebennierenmark 10—30%. Demgegenüber ließ sich in Meerschweinchen- und Kaninchennebennieren kein Arterenol nachweisen. Extrakte aus den Nebennieren dieser beiden Tierarten verhielten sich wie reine Adrenalinlösungen. Vielleicht bestehen Beziehungen zwischen den artspezifischen Unterschieden im hormonalen Mischungsverhältnis des Nebennierenmarkinkretes und dem physiologischen Gesamthabitus der einzelnen Tierarten.

Zur Differenzierung zwischen Adrenalin und Arterenol wurden 4 Testobjekte benutzt: 1. der Blutdruck der kokainisierten Katze (Arterenol 3—10mal wirksamer als Adrenalin), 2. der durch Azetylcholin stimulierte Rattenuterus nach de Jalon (Adrenalin 20—200mal

wirksamer als Arterenol), 3. das Kaninchenileum (Adrenalin 2mal wirksamer als Arterenol), 4. der mehrere Tage gelagerte Kaninchendarm (Arterenol 4—5mal wirksamer als Adrenalin).

Auch bei Kaninchen und Meerschweinchen besteht das von uns früher als Urosympathin bezeichnete blutdrucksteigernde Prinzip des Harns überwiegend aus Arterenol. Als Quelle des Harnarterenols kann deshalb das Nebennierenmark keine maßgebliche Rolle spielen. Die Vermehrung des Arterenolgehaltes bei bestimmten Hypertonieformen weist auf das Gefäßsystem als den wichtigsten Bereich hin, aus dem das Harnarterenol sich herleitet. So scheint auch bei Kaninchen und Meerschweinchen die sympathische Innervation wenigstens überwiegend eine „arterenergische" zu sein.

In einem Fall pathologisch gesteigerter Hormonabgabe aus dem chromaffinen Gewebe eines Nebennierenmarktumors konnten wir dagegen auch Adrenalin im Harn nachweisen. In einem anderen Fall, in dem Phäochromozytomgewebe selbst zur Untersuchung kam, fanden wir ein Mischungsverhältnis von 75% Adrenalin und 25% Arterenol.

Das Mengenverhältnis, in dem die beiden Sympathicomimetica im Tumor vorhanden sind, muß von ausschlaggebender Bedeutung sein für die klinischen Symptome und die Mechanik des durch das Phäochromozytom verursachten Hochdrucks.

Arterenol führt, wie wir schon auf der letzten Tagung darlegten, zu Verminderung des Minutenvolumens, Erhöhung des peripheren Widerstandes und Bradykardie, Adrenalin demgegenüber zu Erhöhung des Minutenvolumens, Verminderung des peripheren Widerstandes und Tachykardie.

Diskussion. Heim: Die mitgeteilten Beobachtungen stimmen mit den von uns bereits publizierten Befunden überein, daß Arterenol in gleicher Menge und mit gleicher Geschwindigkeit wie Adrenalin durch die Aminoxydase oxydiert wird.

Bänder: Bei den histologischen Untersuchungen des Nebennierenmarks konnten wir ebenfalls artspezifische Unterschiede feststellen. Im Nebennierenmark von Mäusen, Ratten, Katzen und Hunden kann man färberisch klar zwei voneinander trennbare Zelltypen feststellen, während das Nebennierenmark von Meerschweinchen und Kaninchen von einheitlichen Zellen aufgebaut ist. Man kann nun vielleicht die Zellen ermitteln, die das Adrenalin oder Arterenol bilden.

P. Holtz (Rostock): Adrenergische und arterenergische Herzinnervation.

Wenn die sympathische Innervation der Gefäße, wie Herr Schümann dargelegt hat, vorwiegend eine „*arterenergische*" ist, so wird verständlich, daß an der sympathikomimetischen Wirksamkeit von Organextrakten *Arterenol* wesentlich beteiligt ist. Denn alle Organe sind mit Gefäßen versorgt und diese mit arterenergischen Nerven. Die sympa-

thische Innervation des *Herzens* erstreckt sich aber nicht nur auf die Gefäße — die Koronargefäße —, sondern betrifft auch das Organ selbst. So wird hier die Frage nach der stofflichen Grundlage der sympathischen Innervation von besonderem Interesse.

Für das *Froschherz* scheint nach den Untersuchungen Loewis und späteren Untersuchungen von Cannon und Lissak *Adrenalin* der einzige chemische Überträgerstoff zu sein; n uere Befunde v. Eulers mit Rinderherzextrakten sprechen dafür, daß hier die Wirksamkeit zu mehr als 90% durch *Arterenol* verursacht ist. Demgegenüber finden Bacq und Fischer in Versuchen mit *menschlichen* Herz- und Koronargefäßextrakten, daß wie das *Froschherz* so auch das *menschliche* Herz ausschließlich Adrenalin als Sympathikomimetikum enthält.

Wir haben Ventrikelmuskulatur menschlicher und tierischer Herzen extrahiert und die wirksamen Substanzen wie in unseren früheren Arbeiten durch Adsorption an Aluminiumhydroxyd isoliert und angereichert. Die Extrakte wurden am durch Azetylcholin stimulierten *Rattenuterus*, der praktisch nur auf Adrenalin anspricht, gegen 0,075 γ Adrenalin ausgetestet. Diese Adrenalindosis ist am *Katzenblutdruck* wirkungslos. Die ihr entsprechenden Extraktmengen würden deshalb ebenfalls blutdruckunwirksam sein, wenn sie nur *Adrenalin* als wirksame Substanz enthielten. Etwa auftretende Blutdruckwirkungen können nur durch einen Stoff verursacht sein, der — am Rattenuterus so gut wie unwirksam — am Blutdruck von gleicher oder sogar von größerer Wirksamkeit wie Adrenalin ist. Praktisch kommt nur Arterenol in Frage. Die Wirksamkeit der einzelnen Extrakte von gleichem Adrenalingehalt (0,075 γ) wird am Katzenblutdruck zum Indikator ihres Arterenolgehaltes: je stärker die Blutdruckwirkung, um so *höher* der Arterenolgehalt, um so *niedriger* der relative — prozentuale — Adrenalingehalt.

Den höchsten Adrenalingehalt besitzt das Froschherz: 100%, wie die Auswertung an anderen Testobjekten ergab. Demgegenüber stehen Rinder- und Schweineherz sowie — im Gegensatz zu den erwähnten Angaben Bacqs — das menschliche Herz mit einem beträchtlichen Arterenolgehalt. Extrakte aus menschlichen Koronargefäßen verhielten sich ähnlich.

Wenn es erlaubt ist, die in Organextrakten nachweisbaren Sympathikomimetika sozusagen als „*Corpora delicti*“ einer zu Lebzeiten ausgeübten Sympathinfunktion anzusprechen, so würde auch für das menschliche Herz wie für alle bisher untersuchten Tierherzen — mit der alleinigen Ausnahme des Froschherzens — zutreffen, daß seine sympathische Innervation überwiegend eine „arterenergische“ ist im Sinne einer Innervation, die sich des Arterenols als chemischen Vermittler bedient. Immerhin besitzt diese arterenergische Innervation eine beträchtliche „adrenergische“ Beimischung, und es liegt nahe anzunehmen, daß dem

beigemischten *Adrenalin* zu Lebzeiten einmal die Funktion des Acceleransstoffes zukam, dem *Arterenol* der Herzextrakte hingegen die Funktion des Sympathins im Bereich des Koronargefäße. Diese Annahme findet eine überzeugende Stütze in der Tatsache, daß der *Frosch* als einzige Tierart keine *arterenergische*, sondern eine rein „*adrenergische*" Herzinnervation hat, daß sich in Froschherzextrakten kein *Arterenol*, sondern nur *Adrenalin* nachweisen läßt: denn das Froschherz besitzt bekanntlich kein Koronargefäßsystem.

Diskussion. Heim: Das unterschiedliche Verhalten von Kaninchen, Katzen und Hunden bei drohender Gefahr läßt sich nicht so sehr durch die Unterschiede im Arterenolgehalt des Nebennierenmarks erklären, sondern in den Unterschieden in der Weite der Gefäße und der vorhandenen Blutdepots. (Katzen enges Gefäßsystem, geringe Blutreserven. Kaninchen, Hunde weites Gefäßsystem, große Blutreserven.)

G. Kroneberg (Rostock): Über die Oxydation von Adrenalin und Arterenol.

Der von Kisch als „Omega-Katalyse" bezeichneten spontanen Oxydation des Adrenalins liegt wohl die Bildung eines rot gefärbten, mit *Adrenochrom* identischen Oxydationsproduktes zugrunde, das die Oxydation katalytisch beschleunigt. Läßt man die Reaktion mit Adrenalin- und Arterenollösungen bei p_H 7,4 in der Warburg-Apparatur ablaufen, so zeigt sich, daß nach einer 3stündigen Induktionsperiode *Adrenalin* nahezu doppelt soviel Sauerstoff aufnimmt wie *Arterenol*. Das für die Adrenalinoxydation verantwortliche *Adrenochrom* scheint demnach ein wirksamerer Oxydationskatalysator zu sein als das aus Arterenol sich bildende *Noradrenochrom*.

Die Ursache könnte in einer größeren Labilität des Noradrenochroms liegen. Läßt man nämlich durch Polyphenoloxydase in beschleunigtem Reaktionsablauf bei p_H 5,3 das gesamte Adrenalin und Arterenol in Adrenochrom bzw. Noradrenochrom überführen, wozu 2 Atome O_2 pro Molekül Substrat erforderlich sind, so kommt die Sauerstoffaufnahme im Adrenalinansatz praktisch zum Stillstand, während sie im Arterenolansatz über die Stufe der „roten Substanz" hinaus unter Bildung braunschwarz gefärbter Produkte fortschreitet.

Daß das stabilere *Adrenochrom* der wirksamere Oxydationskatalysator ist, läßt sich in einem einfachen Modellversuch zeigen, in dem man Ascorbinsäure als Substrat anbietet. Die Ascorbinsäureoxydation wird durch Zusatz einer kleinen Menge Adrenochrom weit mehr beschleunigt als durch Zusatz einer entsprechenden Menge Noradrenochrom. Adrenochrom vermag nach Untersuchungen von Green und Richter als Wasserstoffüberträger zwischen der Milchsäure- und Äpfelsäuredehydrase

einerseits und dem Zytochromsystem andererseits zu fungieren. Es ist anzunehmen, daß Noradrenochrom auch hier der weniger wirksame Katalysator sein würde.

In früheren Untersuchungen hatten wir zeigen können, daß die *hyperglykämische* und die *grundumsatzerhöhende* Wirkung des Adrenalins beim Arterenol viel schwächer ausgeprägt ist. Die Unterlegenheit des Arterenols in bezug auf die Stoffwechselwirkung könnte deshalb durch die geringere Stabilität des aus Arterenol entstehenden Oxydationskatalysators — Noradrenochrom — verursacht sein.

Die Oxydation der beiden Sympathikomimetika zu Adrenochrom bzw. Noradrenochrom wird im *tierischen* Organismus vor allem durch das *Zytochrom-Zytochromoxydasesystem* übernommen. Dieses Oxydationssystem ist vorwiegend in der *Muskulatur* lokalisiert. Hier spielen sich andererseits auch die wichtigsten Stoffwechselwirkungen des Adrenalins und Arterenols ab. — Demgegenüber dürfte der *Aminoxydase*, die Adrenalin und Arterenol durch oxydative Desaminierung der Seitenkette abbaut, eine geringere Bedeutung zukommen. Dafür spricht einmal, das die *Produkte* der Fermentwirkung biologisch unwirksam sind, sodann, daß das *Ferment selbst* hauptsächlich nur an den „Eingangspforten" des Organismus — in Darmwand und Leber — vorkommt.

A. Bänder (Marburg): Zur Toxikologie des Adrenalins, Sympatols, Veritols und Pervitins einzeln und in Kombinationen.

In Zusammenarbeit mit Heim wurde für das Adrenalin, Sympatol, Veritrol und Pervitin die Dosis letalis minima einzeln und in Kombinationen bestimmt. Die letalen Dosen betragen für die Adrenalinbase 5,8 γ/g K. G., für die Sympatolbase 1150 γ/g K. G., für die Veritolbase 195 γ/g K. G. und die Pervitinbase 40 γ/g K. G.

In der zweiten Versuchsreihe wurde nun das Adrenalin jeweils mit dem Pervitin, Veritol und Sympatol kombiniert und nun wiederum die letale Kombinationsdosis ermittelt.

Die letalen Kombinationsdosen für Adrenalin und Pervitin betrugen nun 1,47 γ/g K. G. für das Adrenalin, das sind 25% der letalen Adrenalindosis, und 8 γ Pervitin/g K. G., das sind 20% der letalen Pervitindosis. Die letale Kombinationsdosis beträgt nur 45% der Summe der letalen Einzeldosen. Es handelt sich hier um einen ausgesprochenen Potenzierungseffekt.

Die letalen Kombinationsdosen für Adrenalin + Veritol betrugen für das Adrenalin 1,67 γ und das Veritol 63 γ/g K. G., das sind 28 bzw. 32% der letalen Einzeldosen. Bei dieser Kombination tritt also auch eine Wirkungspotenzierung der Mittel ein, denn die Summe beider Dosen beträgt nur 60% der letalen Einzeldosen.

Bei der Kombination von Adrenalin + Sympatol führte erst die volle letale Einzeldosis von Sympatol zusammen mit einer Adrenalinmenge, die sogar um 14% über der letalen Einzeldosis lag zum Tode der Versuchstiere. Es scheinen sich Sympatol und Adrenalin hinsichtlich ihrer letalen Wirkung gegenseitig nicht zu beeinflussen. Es scheint hier im Gegenteil, daß das Sympatol eine Schutzwirkung gegenüber dem Adrenalin auszuüben vermag, wie dies bereits von Kuschinski gezeigt werden konnte. Die Gegensätzlichkeit imWirkungsmechanismus zwischen Sympatol einerseits und Veritol-Pervitin andererseits wird, wie Heim zeigen konnte, durch den verschiedenen fermentativen Abbau dieser Körper durch die Aminoxydase erklärt. Sympatol wird von diesem Ferment leicht oxydiert und de aminiert, während Pervitin und Veritol nicht angegriffen werden.

Ein weiterer Unterschied zwischen Sympatol und Pervitin-Veritol besteht darin, daß letztere Verbindungen die Aminoxydase hemmen und damit den Abbau des Adrenalins.

Schließlich wurde noch darauf hingewiesen, daß sich Pervitin und Veritol vom Sympatol im Aufbau ihrer Seitenkette grundsätzlich unterscheiden. Pervitin und Veritol haben eine um eine CH_2-Gruppe längere Seitenkette und darin eine mittelständige Alkylamingruppe. Es ist anzunehmen, daß dieser Unterschied im chemischen Aufbau den Grund für die Verschiedenheit in ihrem pharmakologisch-toxikologischen Verhalten darstellt.

Die zu diesen Versuchen verwandten Tiere wurden auch histologisch auf ihre Organveränderungen hin untersucht. Auch hier konnten wir wiederum den Potenzierungseffekt zwischen Adrenalin + Pervitin bzw. Veritol feststellen.

Die letalen Dosen von Adrenalin, Pervitin und Veritol rufen in der Lunge ein schweres Lungenödem hervor. Werden nun die bei den Kombinationen verwandten Dosen einzeln verabfolgt, so treten keine Lungenveränderungen auf. Die Kombination von Adrenalin + Pervitin bzw. Veritol hatten dann wiederum ein schweres Lungenödem zur Folge.

Die Dosis letalis von 1150 γ/g K. G. Sympatol hat ein Lungenödem zur Folge, das nicht die Grade des Adrenalinödems erreicht. Bei der Kombination Adrenalin + Sympatol in den oben erwähnten Dosen sehen wir dann wieder ein schweres Lungenödem auftreten.

In den Nieren lagen die Verhältnisse insofern ganz besonders, als die tödliche Dosis von 5 γ Adrenalin ohne irgendwelche nachweisbaren histologischen Veränderungen ist. Auch die geringen Kombinationsdosen von 8 γ Pervitin bzw. 63 γ Veritol/g K. G. sind ohne nachweisbare Wirkungen auf das Nierenparenchym. Dagegen führen 1,67 γ Adrenalin + 8 γ Pervitin bzw. 63 γ Veritol/g K. G. zu schweren Veränderungen in Form von Schrumpfungen des Glomerulusapparates und Austritt

von eiweißhaltigen Massen in die Bowmansche Kapsel und oberen Tubulusabschnitte. Während also die volle tödliche Dosis von Adrenalin die Nieren in keiner Weise schädigt, verursachen bereits 25% der letalen Adrenalindosis im Verein mit weit subletalen Dosen des Pervitins bzw. Veritols schwere pathologische Nierenveränderungen.

Die Kombination von Adrenalin + Pervitin bzw. Veritol ergibt also hinsichtlich der letalen Dosen als auch des dabei zu beobachtenden histologischen Vergiftungsbild einen Potenzierungseffekt. Während bei der Kombination Adrenalin + Sympatol beide Pharmaka sich in keiner Weise beeinflussen, ja selbst noch nicht einmal die eigentliche zu erwartende Wirkungsaddierung eintritt.

Der Potenzierungseffekt wird in Analogie zur Kombination Physostigmin + Azetylcholin mit der Annahme erklärt, daß hier Pervitin und Veritol den fermentativen Abbau des Adrenalins hemmen.

Diskussion. Kroneberg: Zur Erklärung der Bänderschen Untersuchungsergebnisse müßte auch das verschiedene kreislaufpharmakologische Verhalten der kombinierten Substanzen herangezogen werden. So haben z. B. mit einfacher Methodik von uns durchgeführte Kreislaufuntersuchungen nach Verabfolgung von Adrenalin-Arterenolgemischen am gesunden Menschen gezeigt, daß sich die gegensätzlichen Wirkungen der beiden Sympathikomimetika auf diastolischen Blutdruck und Pulsfrequenz bei geeigneter Dosierung praktisch aufheben können. Diese „Interferenz" gegensätzlicher Kreislaufwirkungen dürfte vor allem bei der Kombination des Adrenalins mit Sympatol, das in seiner Kreislaufwirkung dem Arterenol ähnlich ist, von Bedeutung sein.

D. Krause (Hannover): Über den Mechanismus der depressorischen Adrenalinwirkung.

Die vorliegende Literatur über den Angriffspunkt der gefäßerweiternden Wirkungskomponente des Adrenalins, die nach Vorbehandlung mit Sympathikolytika zur „Wirkungsumkehr" am Blutdruck des Fleischfressers führt, ist noch widerspruchsvoll. — Zur Klärung der Frage, ob die Ursache der gefäßerweiternden Adrenalinwirkung in einem nervösreflektorischen Vorgang zu sehen ist, oder ob der Angriffspunkt auch für diese Adrenalinwirkung in den Erfolgszellen der Peripherie zu suchen ist, wurden Versuche an Hunden angestellt. Zur Darstellung der gefäßerweiternden Wirkungskomponente des Adrenalins als Blutdrucksenkung wurde Yohimbin gegeben. Ergotamin erwies sich als wenig geeignet.

Die Untersuchungen zeitigten folgende Ergebnisse:

1. An dekapitierten Präparaten mit zerstörtem Rückenmark war bei niedrigem Ausgangsblutdruck keine „Adrenalinumkehr" zu erhalten. Nach Erhöhung des niedrigen Ausgangsblutdrucks durch Adrianol oder Arterenol und in einem Falle auch durch $BaCl_2$ war Adrenalin depressorisch wirksam: Die „Umkehr" war hergestellt. Versuche an zusätzlich nikotinisierten und an sympathektomierten Präparaten zeitigten gleichartige Ergebnisse.

2. Auch in tiefer Äther- oder Pernoctonnarkose war Adrenalin depressorisch wirksam, wenn der niedrige Ausgangsblutdruck durch Adrianol oder Arterenol erhöht wurde. — In Versuchen unseres Mitarbeiters Witte zeigten sich extreme Novocaindosierungen (bis zu 200 mg/kg an dekapitierten Hunden) nicht in der Lage, eine depressorische Adrenalinwirkung zu verhindern.

3. Völlige Ausschaltung der branchiogenen Reflexzonen durch Vagotomie und Unterbinden bzw. Abklemmen beider Karotiden ober- und unterhalb des Sinus führt bei intakten Hunden in Chloralosenarkose auch ohne Yohimbin zur „Umkehr" vorher pressorisch wirksamer Adrenalindosen und verstärkt die durch Yohimbin hervorgerufene „Umkehr".

4. Versuche unseres Mitarbeiters Bock über die Beeinflussung der depressorischen Adrenalinwirkung durch Kombinationen von Atropin und Antistin oder Avil blieben ergebnislos; auch Spartein war unwirksam. — Nach Avil führten 5 γ/kg Adrenalin zu einer stärkeren Blutdrucksenkung als 10 γ/kg Histamin. — Eine sichere Verhinderung der depressorischen Adrenalinwirkung konnte nur durch extreme Ephedrindosierungen (20 mg/kg) erreicht werden.

Durch diese Ergebnisse ist erwiesen, daß völlige Zerstörung des Zentralnervensystems und Ausschaltung des Sympathikus sowie tiefe Narkose und hohe Novocaindosen beim Hunde die Fähigkeit des Kreislaufs, auf Adrenalin mit Gefäßerweiterung und nach Yohimbin mit Blutdrucksenkung zu reagieren, nicht vernichten. Die branchiogenen Reflexzonen sind beim Hund bedeutungslos für die adrenergische Vasodilatation. — Eine antagonistische Freisetzung von Azetylcholin oder Histamin ist nach den absolut negativen Ergebnissen mit Atropin und Antihistaminkörpern als Ursache der „Adrenalinumkehr" kaum anzunehmen.

Es scheint demnach sichergestellt, daß die nach Adrenalin eintretende Herabsetzung des peripheren Gefäßwiderstandes, die nach Yohimbin zur „Wirkungsumkehr" am Fleischfresserblutdruck führt, eine Eigenwirkung des Adrenalins und ein peripheres Ereignis ist.

Diskussion. Lullies weist auf die vermutliche Bedeutung des Gewebsstoffwechsels (also auch der Peripherie) bei der nach Ausmaß und Richtung wechselnden Wirkung neurovegetativer Wirkstoffe hin. Er konnte in „Modellversuchen" zur Arbeitsmehrdurchblutung des Muskels (mit Meiners) zeigen, daß Adenosintriphosphorsäure am Läwen-Trendelenburgschen Gefäßpräparat die verengernde Wirkung von Adrenalin und Azetylcholin (das am Kaltblüter in der Regel auch konstriktorisch wirkt) stets durchbricht, bzw. in eine erweiternde umwandelt. Nach den von dem Herrn Referenten diskutierten Zusammenhängen könnte man die Frage stellen, ob die ATP vielleicht auch in das Verhältnis Arterenol-Adrenalin eingreifen kann.

G. Malorny (Kiel): Beziehungen zwischen Adrenalinempfindlichkeit und Purinkörperwirkung am Blutdruck.

Die strittigen Fragen über die Kreislaufwirkung der natürlichen Purinderivate basieren wahrscheinlich auf den noch ungeklärten Korrelationen dieser Stoffe zum autonomen Nervensystem und zu den Funktionen von Zellsystemen. Wir vermuteten, daß die gegensätzlichen Auffassungen durch unterschiedliche, meist zu hohe Dosierungen zu erklären seien.

Wir stellten unsere Blutdruckuntersuchungen vorwiegend an dekapitierten Katzen an. In Kontrollversuchen konnten wir zeigen, daß selbst nach 6—8 Std in der Regel keine wesentliche Änderung der Adrenalinansprechbarkeit auftritt. Injiziert man hingegen einem auf Adrenalin gleichmäßig reagierenden Tier halbstündlich bis stündlich immer wieder eine sehr kleine Menge von einem Purinderivat, z. B. von Theophyllin, wobei man mit 50 γ/kg beginnt und die Dosis allmählich steigert, so erhöht sich die Adrenalinempfindlichkeit in den meisten Fällen ganz außerordentlich. Die Adrenalinsensibilisierung beginnt erst nach 3 bis 4 Std aufzutreten, bleibt 5—10 Std lang bestehen und bildet sich erst nach wiederholten Gaben größerer Purinkörperchen zurück. Die prozentische Blutdruckerhöhung für 1 γ/kg Adrenalin kann in einem solchen Versuch den zehnfachen Betrag des Ausgangswertes erreichen. Die stärksten Adrenalinsensibilisierungen sieht man nach Theophyllin auftreten; es folgen Koffein und Theobromin. Atropinisierung hat keinen Einfluß.

Als Erklärung für die Entstehung der Sensibilisierung kommen mehrere Eigenschaften der Purinkörper in Betracht. So ist seit langem bekannt, daß die Nebennieren sowohl als isoliertes Präparat wie auch in situ nach Koffeingabe an die ausströmende Flüssigkeit sehr erhebliche Mengen von Adrenalin abgeben. Gegen eine solche Auffassung spricht aber unser Befund, wonach die Sensibilisierung auch nach Nebennierenexstirpation bestehen bleibt. Als weitere Erklärungsmöglichkeit kommt die Annahme einer Aminooxydasehemmung in Frage, nachdem in neuen Untersuchungen von Heim und Reim in vitro eine Oxydasehemmung, namentlich für Koffein und Theophyllin, beobachtet wurde. Einer Übertragung der Befunde auf den Gesamtorganismus steht u. a. die Beobachtung entgegen, daß gerade nach höheren Purinkörpergaben die Sensibilisierung wieder verschwindet. Eine bessere Erklärungsmöglichkeit gewähren die gemäß unserer Vermutung von G. W. Jacobi an unserem Institut durchgeführten Messungen von Demarkationspotentialen an isolierten Froschmuskeln, die in Purinkörperlösungen verschiedener Konzentration getaucht wurden. Interessanterweise wirken sehr niedrige Koffeinkonzentrationen (unterhalb $8 \cdot 10^{-4}$) auf die Muskelmembranen längere Zeit im elektrischen Sinne positivierend; ein Befund, der für das Theophyllin in noch ausgeprägterem Maße gilt.

Demnach dürften die sehr kleinen Purinkörperdosen die Adrenalinwirkung durch Membrandichtung verstärken. Erst nach höheren Koffeinkonzentrationen (oberhalb 10^{-3}) treten die bekannten Membrandepolarisationen auf.

Das Auftreten einer Sensibilisierung für Adrenalin wird vermißt, wenn man gleich zu Beginn des Versuches höhere Purinkörpergaben (z. B. 2—5 mg/kg Koffein) verabfolgt. Man sieht dann meistens nur eine zunehmende Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit, die nach mehreren Stunden und wiederholten Koffeingaben von 10—20 mg/kg bis auf 10% der anfänglichen Adrenalinblutdruckwirkung absinken kann. Die Ansprechbarkeit auf Arterenol bleibt länger erhalten.

Auch im ganz akuten Versuch können die Purinderivate die Adrenalinwirkung abschwächen. Dieser depressive Effekt ist nicht ohne weiteres der eben besprochenen Abschwächung im langandauernden Versuch vergleichbar, da er sich auch am sensibilisierten Tier auslösen läßt und nach kurzer Dauer reversibel ist. Der Angriffspunkt hierfür scheint in der Peripherie zu liegen. Die akute Adrenalindepression kann man am sinnfälligsten auslösen, indem man vor und kurz nach einer mittleren Purinkörpergabe (3—10 mg/kg) die Blutdruckwirkung gleicher Adrenalinmengen miteinander vergleicht. Die Adrenalinabschwächung ist am stärksten, wenn die Purinkörperdosis zusammen mit der entsprechenden Adrenalindosis als Mischspritze verabfolgt wird. Die Adrenalinwirkung kann dann bis auf 30% des Ausgangswertes abgeschwächt sein. Bereits nach 10—20 min ist die gleiche Adrenalinblutdruckwirkung wie vor der Purinkörperinjektion wieder erreicht. Der akute depressive Effekt auf die Adrenalinwirkung ist nach Theophyllin stärker als nach Koffein und Theobromin. Er ist nicht als Sympathikuslähmung aufzufassen. Da Papaverin bei etwa gleicher Dosierung ganz ähnliche Effekte hervorruft, liegt die Annahme nahe, daß die Purinderivate bei mittlerer Dosierung direkt an der glatten Muskulatur angreifen und diese zur Erschlaffung bringen. Für die Annahme eines direkten Angriffspunktes spricht auch die Tatsache, daß Fälle von Asthma bronchiale, die sich den Sympathikomimeticis und Parasympathikolyticis gegenüber refraktär verhalten, auf Theophyllin oft gut ansprechen.

Nach den berichteten Ergebnissen erscheint es nicht verwunderlich, daß die natürlichen Purinkörper auch die Sympatolwirkung abschwächen. Injiziert man auf der Höhe des Sympatolplateaus Koffein, so fällt der Blutdruck sofort unter zunehmender Vergrößerung der Pulsamplituden stark ab. Mischspritzen von Sympatol und Koffein lassen den Blutdruck weniger stark ansteigen. Auf diese Weise wird der brüske Blutdruckanstieg, wie er nach hohen Sympatoldosen erfolgt, vermieden.

Diskussion. Heim: Da die Gefäßwand besonders aminoxydasereich sein soll, so läßt sich der die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalin sensibilisierende

Einfluß von Methylderivaten des Xanthin vielleicht doch am ehesten mit der von uns nachgewiesenen aminoxydasehemmenden Wirkung der Methylxanthine erklären.

R. Völker (Göttingen): Prüfung peripherer Kreislaufmittel am gesunden und kranken Menschen.

An Hand einer Reihe von Einzelbeispielen werden Möglichkeiten und Fragestellungen angezeigt, die sich aus der Anwendung moderner Methoden der Kreislaufdiagnostik bei Gesunden und Kreislaufkranken für die Therapie ergeben. Es kamen dabei folgende Methoden zur Anwendung: Photoelektrische Plethysmographie nach Matthes zur Bestimmung von Gesamtblutfülle, Gesamtarterialisation der Gliedmaßenperipherie, Messung der Arteriolendurchblutung (Völker), Strömungskalorimetrie (Aschhoff), thermoelektrische Messungen der Hauttemperatur, physikalische Kreislaufanalyse nach Frank-Wezler-Böger. Es ergibt sich u. a., daß für die Wirkung eines Mittels die vegetative Ausgangslage, der individuelle Gesamtregulationsmodus usw. eine Rolle spielen, die die lokalen Wirkungen eines Mittels umzukehren vermögen. Wegen ungleicher peripherer Wirkungen durch unübersichtliche und nicht vorherzusehende Gegenregulationen kann unter Umständen lokale Applikation z. B. intraarterielle Injektion erforderlich werden, um den gewünschten Effekt zu erzwingen, falls nicht die lokale Wirkung, wie am Beispiel des Eupaverins gezeigt wird, so dominiert, daß sich die übrigen Reaktionen im Kreislauf diesem Effekt unterordnen und die erwünschte Wirkung in jedem Fall auch bei intramuskulärer oder intravenöser Applikation eintritt.

K. Mechelke (Erlangen): Vergleichende Untersuchungen der Kreislaufwirkung von Adrenalin und Arterenol.

An kreislaufgesunden Versuchspersonen wurde die Kreislaufwirkung von Adrenalin, Arterenol und Privin mit den fortlaufend registrierenden Methoden von Matthes untersucht. Darüber hinaus wurden die physikalischen Kreislaufgrößen nach Brömser-Ranke und die Anspannungs- und Austreibungszeit nach Blumberger gleichzeitig bestimmt. Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß das Adrenalin beim intakten Kreislauf des Menschen eine Herzwirkung im Sinne einer Acceleransreizung (Tachykardie, positive Inotropie) auslöst, sowie eine Förderung des venösen Rückstromes. Erst in einer zweiten Phase tritt eine reflektorische durch Blutdruckanstieg ausgelöste Bradykardie auf. Im Gegensatz dazu wird beim Arterenol eine Acceleranswirkung sowie eine Förderung des venösen Rückstromes völlig vermißt. Es kommt sofort zur Entwicklung eines reinen Widerstandshochdruckes mit starker Bradykardie. Die Kreislaufwirkung des Arterenol entspricht somit weitgehend der des Privin und Otrivin.

Einzelheiten des Vortrages wurden in der Zeischrift für die gesamte experimentelle Medizin, Bd. 115, S. 586, 1950, publiziert.

Diskussion. Holtz, P.: In einem gewissen Gegensatz zu dem Befund des Vortragenden, daß Adrenalin und Arterenol eine gleich starke konstriktorische Wirkung auf die Hautgefäße ausüben, steht das Ergebnis zahlreicher Versuche der Rostocker Zahnklinik, daß die Kombination Novocain-Adrenalin eine längerdauernde Anästhesie gewährleistet als die Kombination Novocain-Arterenol. Im Bereich der Schleimhäute scheint demnach Adrenalin stärker gefäßwirksam zu sein.

Haffner und Milech (Tübingen) (vorgetragen von Milech): Über unterschiedliche Hemmbarkeit der elektrischen und der chemischen Reizung von Froschmuskel und Froschherz.

Am *durchströmten Nerv-Muskelpräparat* (hintere Extremität vom Frosch) werden die durch elektrische Reizung des Ischiadicus bewirkten Kontraktionen und die durch Injektion von 0,5 cm^3 10^{-6} Azetylcholin in die Perfusionskanüle ausgelösten fibrillären Zuckungen von denselben Konzentrationen der von uns untersuchten Hemmungsstoffe unterdrückt. (Atropin: 10^{-4}, Novocain: 10^{-3} bis $2 \cdot 10^{-3}$, Alkohol: $2 \cdot 10^{-2}$ bis 10^{-1}, Urethan: $5 \cdot 10^{-2}$ bis 10^{-2}, Chloralhydrat: $2 \cdot 10^{-2}$ bis 10^{-1}.)

An dem in situ von der Bauchvene her *durchströmten Herz-Nervenpräparat* wird der durch elektrische Vagusreizung oder durch Injektion von 0,5 cm^3 10^{-8} bis 10^{-7} Azetylcholin erzeugte Herzstillstand durch Atropin und Novocain und Anästhesin ebenfalls in denselben Konzentrationen unterdrückt (Atropin: 10^{-9}, Novocain: 10^{-5}, Anästhesin: 10^{-4}), wogegen Pantocain, Alkohol und Urethan nur den elektrischen Reizerfolg aufheben, nicht aber den Azetylcholinstillstand. Die Steigerung der Herzfrequenz, die am atropinisierten Präparat durch Reizung des Herznerven oder durch Injektion von 0,5 cm^3 Adrenalin 10^{-6} (bis auf etwa das Doppelte) erzielt werden kann, wird hinwiederum durch dieselben Konzentrationen der Lokalanästhetika und Narkotika verhindert, die den elektrischen Vagusreiz unterdrücken.

Am Loewi-*Präparat* mit dem Herz an der Straubschen Kanüle wird lediglich die Wirkung der elektrischen Vagusreizung und des Azetylcholins (auf Chronotropie und Inotropie) von Atropin, Novocain und Anästhesin (Atropin: 10^{-9}, Novocain: 10^{-5}, Anästhesin: 10^{-4}) aufgehoben, während mittels der Narkotika keinerlei Hemmwirkung erreicht werden konnte. Im adrenergischen Bereich konnte die Frequenzsteigerung durch elektrische Acelleransreizung nur von den Lokalanästhetika verhindert werden.

Für die unterschiedlichen Ergebnisse werden grundsätzliche Verschiedenheiten der Versuchsanordnungen verantwortlich gemacht.

Hahn, Plester und Rummel (Düsseldorf): Zur Pharmakologie der Blutdruckregulation. Ein Beitrag zum Zentrenproblem.

Mit zentralen Analepticis läßt sich experimentell schwieriger eine Blutdrucksteigerung erzielen als mit peripher angreifenden Mitteln. Auf dem Boden einer starren Zentrenvorstellung, nach der die Blutdruck-

wirkung der Analeptika ausschließlich auf Reizung eines nur pressorisch wirksamen Zentrengebildes in der Medulla oblongata beruht, ist diese Tatsache schwer verständlich. Zu einer neuen Auffassung führten Versuche, in denen die Analeptika mit einer von uns ausgearbeiteten Technik auf dem Wege der Arteria vertebralis dem Hirnstamm zugeführt wurden. Die Versuche wurden an vagotomierten Katzen in Chloralosenarkose ausgeführt. Der mit unserer Injektionsmethode überstrichene Abschnitt des Zentralnervensystems wurde durch intravertebrale Injektion von Triphenyltetrazoliumchlorid bestimmt. Vergleichsweise wurde die Wirkung der Analeptika bei intravenöser Injektion geprüft. Es ergab sich, daß mit Kardiazol und Pikrotoxin sowie einem Triazolderivat bei intravertebraler Injektion bald eine Blutdrucksteigerung, bald eine Blutdrucksenkung, bald auch abwechselnd Blutdrucksenkung und Blutdrucksteigerung zustande kamen. Die intravenös ausgelöste Reaktion bestand unabhängig von der Wirkung der intravertebralen Injektion immer in einer Blutdrucksteigerung. Nach diesem Ergebnis beeinflussen die erwähnten Analeptika im Hirnstamm nicht ein starres Zentrum, sondern ein labiles Regulationssystem, das je nach der gerade herrschenden Gleichgewichtslage nach der pressorischen, der depressorischen oder nach beiden Seiten ausschlägt. Durch Vertiefung der Chloralosenarkose läßt sich eine intravertebral ausgelöste Blutdrucksenkung in eine Steigerung umkehren. Im Gegensatz hierzu wird durch Barbitursäurenarkose die Reaktionslage des Systems nach der anderen Seite verschoben, so daß Blutdrucksenkungen intravertebral außerordentlich regelmäßig und schon mit kleinen Dosen auftreten, während die blutdrucksteigernde Wirkung auch bei intravenöser Injektion selbst bei hohen Dosen nur schwach bleibt. Durch Karotisabklemmung (Blutdruckzügelausschaltung) wird die Labilität des Systems erhöht, durch zusätzliche Abklemmung einer Vertebralis (Hypoxiewirkung) wird die pressorische Reaktionsbereitschaft verstärkt. Die Einseitigkeit der intravenösen Wirkung deutet auf eine Mitwirkung des Rückenmarks hin, in welchem eine Prävalenz pressorischer Zentren, in Übereinstimmung mit früheren Versuchen an dekapitierten Katzen, anzunehmen ist. Durch diese bekommt der pressorische Effekt bei der intravenösen Injektion die Oberhand.

Versuche mit Koramin an Katzen in Chloralosenarkose ergaben, daß 1. die schon bei intravenöser Injektion nachweisbare blutdrucksenkende Wirkung bei intravertebraler Injektion stärker ausfällt, daß 2. intravertebral auch dann eine Senkung ausgelöst wird, wenn das Kardiazol intravertebral steigernd wirkt und daß 3. die senkende Koraminwirkung durch zusätzliche Chloralosegaben nicht umzukehren ist. Hieraus ergibt sich für das Koramin eine hohe Affinität zum depressorischen Anteil des supraspinalen Regulationssystems, auf die auch die senkende Wir-

kung bei intravenöser Injektion zurückzuführen ist. Im Gegensatz hierzu spricht das System bei Kaninchen auf Koramin vornehmlich im pressorischen Sinne an. Hier wirkt das Koramin auch intravenös blutdrucksteigernd, und zwar stärker als Kardiazol.

Das Substrat der zentralanaleptischen Blutdruckwirkung ist also nicht ein isoliertes Zentrum, sondern ein ausgedehntes Regulationssystem, dessen Reaktion von seiner Konstellation, welche durch intrazentrale Vorgänge und periphere Afferenzen beeinflußbar ist, und von der chemischen Natur des Analeptikums abhängt. Diese Abhängigkeit tritt um so mehr in Erscheinung, je höher die Rangordnung der angesprochenen Teile des stufenartig aufgebauten Systems ist. Daher die polyvalente Wirkung bei intravertebraler Injektion und die monotone, d. h. uniform pressorische Wirkung nach Dezentralisierung durch Ausschaltung der höheren Abschnitte (Dekapitierung).

Diskussion. Zipf fragt an, ob sich Anhaltspunkte für eine depressorisch wirksame Reflexzone ergeben haben, durch die die vorgetragenen Befunde erklärt werden könnten. Die Frage wird von Hahn verneint. Auf eine weitere Frage von Zipf wird noch angeführt, daß die Blutdrucksenkungen häufig von Bradykardie begleitet waren.

F. Neuwald (Hamburg): Die Berücksichtigung neuer Erkenntnisse bei biologischen Digitaliswertbestimmungen.

Die Auffindung einer parenteral toxischen Fraktion in Digitalisblättern, die keine Digitalisherzwirkung wie die Glykoside zeigt, macht die bisher üblichen biologischen Wertbestimmungen der Droge problematisch. Es wird eine modifizierte Wertbestimmung vorgeschlagen, die lediglich die herzwirksamen Glykoside erfaßt. Die Modifizierung beruht auf der Chloroformextraktion der mit Bleiazetat gereinigten Digitalislösungen, da die unbekannte, nicht digitaliswirksame Fraktion chloroformunlöslich ist. Die Chloroformlösungen werden eingedampft und der Rückstand, der aus den herzwirksamen Digitalisanteilen besteht, wie Reinglykoside am Meerschweinchen bestimmt.

Der Vortrag wird ausführlich im Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie veröffentlicht.

G. Zöllner (Hamburg): Vergleichende Untersuchungen von Digitalisdrogen auf Grund chemischer und biologischer Wertbestimmungen.

Die von Knudson und Dresbach[1] auf dem Prinzip der Baljet-Reaktion ausgearbeitete chemische Methode zur Wertbestimmung von Digitalisdrogen wurde durch die Hygienekommission des Völkerbundes anläßlich der Einführung eines internationalen Digitalisstandards auf ihre Brauchbarkeit geprüft. Hierbei bestätigten sich die Befunde der beiden Autoren, daß die mit der chemischen Wertbestimmung ermittelten Resultate unter zufriedenstellender Fehlerbreite mit den biologischen (Methodik nach Hatcher) in Relation zu setzen waren. Die Umrechnung

der durch die chemische Methode erhaltenen Resultate auf den Glykosidgehalt der Drogen führte aber zu 2—2,5 fach zu hohen Werten[2]. Aus diesem Grunde wurde dieses Verfahren für die Digitalisstandardisierung abgelehnt. Untersuchungen auf Übereinstimmung der chemischen Methode zur Wirksamkeit von Drogen an Fröschen erbrachten nach Wasicky und Mitarbeitern[3] sowie nach Rowe[4] keine Parallelität der Ergebnisse. Lendle und Schmelzer[5] zeigten 1935 die Anwendungsmöglichkeit der Methode bei Arbeiten mit Reinglykosiden und Geninen und klärten einige umstrittene Punkte der Reaktion auf. 1945/46 wurde die Methode von Bell und Krantz[6, 7] auf Anregung der Arzneibuchkommission der Vereinigten Staaten erneut geprüft, wobei an Stelle des Quabains die Digitalisstandarddroge als Vergleich diente. Neuwald[8] entwickelte eine Methodik, bei der die Genine *nach* Hydrolyse der Glykoside nach Knudson und Dresbach aus den Drogen bestimmt werden. Zum Vergleich dient Digitoxin.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Neuwald und Frl. Diekmann 13 Drogenmuster chemisch nach Knudson und Dresbach sowie nach Neuwald und biologisch an Meerschweinchen nach Knaffl-Lenz[9] und zum Teil außerdem noch an Katzen nach de Lind van Wijngaarden[10] geprüft (siehe Tab. 1). Auch bei diesen Versuchen stimmten die nach Knudson und Dresbach gewonnenen Resultate unter Beziehung auf eine Standarddroge gut mit den entsprechenden biologischen Wirkungsprozentwerten überein (Tab. 1, Stab 3 und 8). Ein ähnliches Verhältnis erbrachte die chemische Bestimmung nach Neuwald (Tab. 1 Stab 5 und 8). Anders als bei den auf die Ergebnisse des Musters 6 bezogenen relativen Werten errechnet sich der *Glykosidgehalt* der Drogen nach der Geninbestimmung um rund 70—80% niedriger als nach der Methode von Knudson und Dresbach (Tab. 1, Stab 2 und 4).

Lendle und Schmelzer haben besonders darauf hingewiesen, daß die Baljet-Reaktion nicht streng spezifisch ist. Es ist wahrscheinlich, daß neben den Glykosiden auch andere Substanzen die Rotfärbung verursachen und dadurch einen zu hohen Glykosidgehalt vortäuschen. Diese Fehlerquelle ist bei der Geninbestimmungsmethode ausgeschaltet. Die mit ihr erhaltenen Werte entsprechen der von Stoll und Kreis[11] veröffentlichten Ausbeute. Darüber hinaus sind die Ergebnisse mit denen der Methode nach Soos[12], mit welcher der Digitoxoseanteil bestimmt wird, nahezu identisch.

Nimmt man diese Glykosidkonzentration als tatsächlich vorhanden an, dann müßte die biologische Methode ebenfalls zu hohe Resultate ergeben. Bei einer Wirksamkeit des Digitoxins von annähernd 1,5 mg/kg Meerschweinchen wäre bei einer Droge von 5 Meerschweincheneinheiten ein Glykosidgehalt von 7,5‰ zu erwarten. Dieser Wert liegt ungefähr

viermal höher als der mit der Geninbestimmung gefundene. Bereits vor Jahren betonte Rothlin die Angreifbarkeit der biologischen Digitalisstandardisierung, deren durch *intravenöse* Verabreichung ermittelte Wirksamkeit den Maßstab für die *orale* Dosierung darstellt. In Weiterführung dieses Gedankens nehmen wir die Anwesenheit einer Komponente in den Digitalisblättern an, die zwar bei intravenöser, kaum aber bei oraler Applikation zur Wirkung gelangt. Diese Komponente müßte die Färbung nach Baljet geben und chloroformunlöslich sein. Sie besitzt keine *typisch* den Herzglykosiden eigene Wirkung und nach ihrer Entfernung besteht eine bessere Übereinstimmung zwischen den photometrischen und biologischen Werten.

Tabelle 1.

	Chemische Wertbestimmung					Biologische Wertbestimmung			
	Glykosidgehalt n. d. modifizierten K.-D. Methode		Glykosidgehalt n. d. Genin-Bestimmungs-Methode		Quotient aus Werten der Stäbe 2 u. 4	Meerschweinchen		Katzen	
Muster Nr.	Gewichtsprozente	Prozent Wirksamkeit auf Must. 6 bez.	Gewichts-Prozente	Prozent Wirksamkeit auf Must. 6 bez.		Meerschw. Einh.	Prozent Wirksamkeit auf Must. 6 bez.	Katzen Einh.	Prozent Wirksamkeit auf Must. 6 bez.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1,07	96	0,19	100	5,6	5,6	110		
2	0,94	84	0,22	116	4,3	5,0	98	9,7	92
3	0,94	84	0,09	48	(10,4)	3,6	71	7,5	72
4	0,89	80	0,10	53	(8,9)	3,7	73	7,4	71
5	0,93	83	0,19	100	4,9	6,2	121		
6	1,12	100	0,19	100	5,9	5,1	100	10,5	100
7	1,37	122	0,24	126	5,7	5,1	100	9,5	90
8	0,87	78	0,24	126	3,6	4,3	84	9,0	86
9	0,64	55	0,17	89	3,7	2,8	55		
10	0,76	68	0,23	121	3,3	3,0	59		
11	0,73	65	0,20	105	3,6	2,9	57	7,9	75
12	0,85	75	0,19	100	4,5	5,1	100	11,1	105
13	0,80	72	0,14	74	5,7	4,1	80	7,7	73

Erklärung siehe Text. Die Muster Nr. 3 und 4 wurden im Gegensatz zu den anderen bereits im Juni geerntet.

Als Stütze für unsere Hypothese sehen wir die Veröffentlichung von Gold[13] über die Auswertung herzwirksamer Glykoside an Menschen an. Er betont die Notwendigkeit höherer nach Katzeneinheiten gemessener Dosierung bei Drogen gegenüber Reinglykosiden. Eine weitere Bestätigung erblicken wir in der Tatsache, daß für die durch Chloroformausschüttelung gewonnene injizierbare Digitaliszubereitung des Schweizer Arzneibuches von 1933[14] die gleiche maximale Einzeldosis vorgesehen ist wie für ihr Ausgangsprodukt, dem ebenfalls offizinellen oral verabreichbaren Extractum Digitalis.

Unter diesen Gesichtspunkten erscheint die biologische Standardisierung nur dann unanfechtbar, wenn das Verhältnis der unbekannten Komponente zum Glykosidegehalt der Drogen konstant wäre. Das ist jedoch nicht der Fall. Die Größenänderung dieses Verhältnisses schwankt — wie aus Abb. 1, Stab 6 ersichtlich — zwischen 100 und 200% bei den im September geernteten Drogen. Da diese Variation nach den Untersuchungen von de Graff, Batterman und Rose[15] noch innerhalb der möglichen Differenz der Ansprechbarkeit zwischen verschiedenen Individuen liegt, ist es verständlich, daß von seiten der Klinik nur selten über unterschiedliche Wirksamkeit von Digitalisdrogen Klage geführt wird.

Literatur.

[1] Knudson, A., u. M. Dresbach: J. of Pharmacol. **83**, 213 (1923). — [2] Knaffl-Lenz, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **135**, 259 (1928). — [3] Wasicky, R. F. Lasch, K. Schonovski: Arch. Pharmaz. **264**, 92 (1926). — [4] Rowe, L. W.: J. Amer. pharmaceut. Assoc. **16**, 510 (1927). — [5] Lendle, L., u. M. Schmelzer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 622 (1935). — [6] Bell, F. K., u. J. C. Krantz jr.: J. of Pharmacol. **83**, 213 (1945). — [7] Bell, F. K., u. J. C. Krantz jr.: J. Amer. pharmaceut. Assoc. **35**, 260 (1946). — [8] Neuwald, F.: Arch. Pharmaz. **283** (1950) im Druck. — [9] Knaffl-Lenz, E.: J. of Pharmacol. **29**, 407 (1926). — [10] de Lind van Wijngaarden: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **112**, 252 (1926). — [11] Stoll, A.: Schweiz. med. Wschr. **70**, 594 (1940). — [12] Soos, E.: Scientia Pharmac. **16**, 1 u. 29 (1948). — [13] Gold, H.: J. Amer. med. Assoc. **132**, 547 (1946). — [14] Pharmacopoea Helvetica, Deutsche Ausgabe, Bern, 1933, Seite 334 bzw. 512. — [15] de Graff, Batterman u. Rose: J. Amer. med. Assoc. **138**, 475 (1948).

W. Trautwein (Bad Nauheim): **Die Wirkung des Strophanthins auf die elektrische Erregungswelle des insuffizienten Säugetierherzens.**

Mit 1 Textabbildung.

Es wurde die Wirkung des Strophanthins auf die Veränderungen der Aktionspotentiale bei akuter spontaner und experimenteller Herzinsuffizienz untersucht. Dabei wurden mit einer Mikroelektrode die Aktionspotentiale von etwa 20—30 Myokardfasern auf der Oberfläche des freigelegten in situ schlagenden Hundeherzens abgegriffen. Durch die außerordentlich kleinen Dimensionen der Elektrode sind quantitative Rückschlüsse auf das Geschehen an der einzelnen Myokardfaser möglich. Gemessen wurde die Leitungsgeschwindigkeit v der elektrischen Erregungswelle und die Dauer t des Erregungsanstiegs unter der Elektrode. Wir verstehen unter dem Erregungsanstieg die elementare R-Zacke einzelner oder weniger Myokardfasern, deren millionenfache Überlagerung am Extremitäten-Ekg als QRS-Komplex zum Abgriff kommt. Aus v und t wird nach der allgemeinen Wellengleichung $v = l/t$ die Größe l errechnet, die identisch mit dem Bereich ist, in dem die elektrotonischen Stromschleifen von der maximal erregten umgeladenen Membranstelle längs der Faser ausgreifen (Anstiegslänge). (Zur Methodik vgl. Schaefer

und Trautwein[1].) Nach der Registrierung des Differentialaktionsstrompaares der Abb. 1a, das dem Verhalten der elektrischen Erregungswelle im suffizienten Myokard entspricht, wurde das Herz mit Chinidin zur Insuffizienz und Dilatation gebracht (Abb. 1a—c). Im Verlauf dieser Reaktion wird die zeitliche Versetzung der beiden Aktionsströme immer größer, die Leitungsgeschwindigkeit der Erregungswelle nimmt also ab. Gleichzeitig damit nimmt die Dauer der Welle unter der Elektrode zu: der Differentialaktionsstrom wird breiter. Diese Verbreiterung geht nach intravenöser Strophanthinapplikation schlagartig in eine Ver-

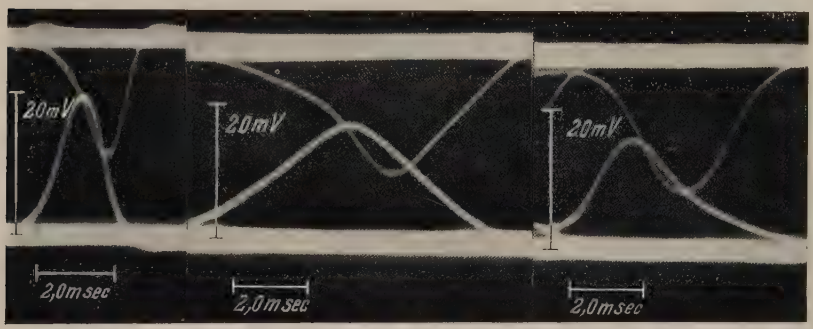


Abb. 1a—c. Hund, 5 kg, Versuch vom 9. 12. 1948. — a) Ein Aktionsstrompaar, das bei normalem suffizienten Myokard registriert wurde. Zu beachten ist die zeitliche Versetzung der beiden Aktionsstromspitzen und die Breite des Aktionsstroms auf der Abszisse. — b) Nach 2×50 mg Chinidin intravenös deutliche Zunahme der Zeitversetzung der beiden Aktionsstrommaxima und Verbreiterung des Differentialaktionsstroms. — c) Unmittelbar nach $^1/_8$ mg Strophanthin. — In Abb. b) war die Kamera zu lange geöffnet, so daß 3 Aktionsstrompaare zur Abbildung kamen. Der Übersichtlichkeit halber wurden 2 Paare retuschiert.

schmälerung über (Abb. 1c). Die plötzliche Umkehr gegen die Norm hin erfolgt momentan, 2—3 sec nach der intravenösen Injektion von Strophanthin. Nach Chinidin fällt also die Leitungsgeschwindigkeit ab, die Anstiegsdauer nimmt zu, jedoch nicht umgekehrt proportional zur Abnahme der Leitungsgeschwindigkeit. Die Anstiegslänge vergrößert sich ebenfalls. Nach $^1/_8$ mg Strophanthin intravenös fällt nun die Leitungsgeschwindigkeit zunächst noch ab, die Anstiegslänge verkürzt sich jedoch unter den Ausgangswert, die Anstiegsdauer nimmt ebenfalls ab. Erst nach einigen Minuten beginnt die Leitungsgeschwindigkeit wieder anzusteigen. Was sich hier durch Strophanthin geändert hat, ist eine Membraneigenschaft, und zwar ihre Polarisierbarkeit.

Bei akut spontanen Insuffizienzen oder durch Chloroform herbeigeführten Dilatationen beobachten wir umgekehrte Proportionalität von Leitungsgeschwindigkeit und Anstiegsdauer, also keine oder kaum eine Zunahme der Anstiegslänge[2]. (Dieses Verhalten wird auch nach mehrfach wiederholter Injektion größerer Dosen Chinidin beobachtet, zumal wenn zuvor Strophanthin injiziert wurde.) Strophanthin wirkt auch hier

im selben Sinne wie nach Chinidin, verkürzt also Anstiegslänge unter den Ausgangswert bei noch suffizientem Myokard. Die Verkürzung ist jedoch nicht so auffallend. Dafür steigt nach unseren bisherigen Beobachtungen die Leitungsgeschwindigkeit schneller an. Das reziproke Verhalten der Leitungsgeschwindigkeit und Anstiegsdauer deuten wir als Schwellenphänomen; der Stromfluß von der erregten Membranstelle aus muß länger andauern, ehe der angrenzende und ruhende Faserteil ebenfalls erregt wird. Diese durch eine Schädigung des Myocards erhöhte Schwelle wird vermutlich durch Strophanthin erniedrigt.

Literatur.

[1] Schaefer u. Trautwein: Pflügers Arch. **251**, 417—448 (1949). — [2] Trautwein: Pflügers Arch. **252**, 573—589 (1950).

F. Eichholtz (Heidelberg): Über extrakardiale Digitaliswirkungen.

Gemeinsam mit Herrn Riecker wurde eine Reihe von Herzglykosiden an der Ratte geprüft. Es wurde diejenige Dosis bestimmt, die bei intravenöser Injektion die ersten — elektrokardiographisch faßbaren — Störungen der Herzfunktion zur Folge hat, nämlich Bradykardie und Abflachung der T-Zacke (Aufnahme mit Meto-Gerät).

Bei dieser Dosierung traten zwei extrakardiale Effekte auf, nämlich 1. eine *stimulierende Wirkung auf die quergestreifte Muskulatur* gemessen mit der Ratten-Masseter-Methode von Eichholtz und Hotovy. Am gleichen Versuchstier, das in mehrtägigen Intervallen in den Versuch genommen wird, läßt sich unter Umständen die ganze Reihe der Herzglykoside miteinander vergleichen. Man beobachtet rasch einsetzende Effekte z. B. nach G.- und K.-Strophanthin, Strophanthol u. a. und langsam einsetzende wie nach Digitoxin. Sonstige sichere Unterschiede werden nach den obigen Dosen nicht gesehen.

Der zweite periphere Effekt betrifft eine *Verminderung der Kapillarbrüchigkeit* (Eichholtz und Veigel) gemessen mit der Saugmethode; sie findet sich in der angegebenen Dosierung nach allen Herzglykosiden. Es gibt keine Methode, die an der Ratte einen so exakten Vergleich der Herzglykoside in Hinblick auf Dosierung, Resorptionsgeschwindigkeit bei verschiedener Applikationsweise, Dauer der Wirkung gestatten würde, als diese Saugmethode — sofern geeignete Tierstämme und genügend großes Kollektiv verwandt werden. — Mit dieser Methode kann auch die perorale Wirkung der Herzglykoside gemessen werden; während z. B. nach G.- und K.-Strophanthin die 20fache intravenöse Dosis notwendig ist, um die gleichen Effekte peroral zu erzielen, wirkt das Strophanthol auch peroral bei der intravenösen Dosis von 250 γ/100 g Ratte. Auf die mögliche klinische Bedeutung wird hingewiesen.

O. Dann (Erlangen): Die Blut-Hirn-Schranke der Ratte in ihrem Verhalten gegenüber Prostigmin und Physostigmin.

Ratten wurden durch subkutane Injektion von Prostigmin oder Physostigmin getötet. Der Azetylcholingehalt der Gesamthirne dieser Ratten wurde mit der Blutegelmethode bestimmt: Die Hirne der mit Prostigmin getöteten Ratten wiesen denselben Azetylcholingehalt auf wie Normalhirne, während mit Physostigmin getötete Ratten einen verdoppelten Azetylcholingehalt aufwiesen.

H. Herken (Berlin): Funktionsstörungen im Zentralnervensystem durch Hexachlorcyklohexan.

Hexachlorzyklohexan erzeugt beim Warmblüter ein typisches Vergiftungsbild mit zentralnervösen Symptomen. Es wurde geprüft, ob die normale Funktion des Zentralnervensystems nicht schon durch Dosen gestört wird, die unterhalb der LD 50 liegen. Die Erregbarkeit des Zentralnervensystems der mit HCH vorbehandelten Tiere wurde mit Hilfe von Kardiazol und in einigen Versuchen auch mit Strychnin getestet. Versuchstiere waren weiße Ratten. Die Versuche führten zu dem überraschenden Ergebnis, daß eine einmalige orale Gabe von HCH die Auslösung von Kardiazolkrämpfen innerhalb eines längeren Zeitraumes verhindert oder beeinträchtigt. Bei Verwendung von reinen Isomeren lieferte die γ-Komponente prinzipiell die gleichen Ergebnisse, die auch mit dem technischen Produkt erhalten wurden. In wäßriger Suspension waren β- und α-Isomere wirkungslos, wenn 80 mg/kg Kardiazol als Krampfdosis verwendet wurde. Wurden die verschiedenen Isomeren in Lipoidlösungsmitteln gelöst, so zeigte sich, daß auch die β- und α-Komponente deutliche krampfhemmende Eigenschaften besitzen. Die Dauer der krampfhemmenden Wirkung ist unter diesen Bedingungen beim α-Isomeren am kürzesten. Der Angriffspunkt für die beschriebene Wirkung des HCH wird wahrscheinlich an der gleichen Stelle zu suchen sein, die für die krampferzeugende Wirkung des Kardiazols wichtig ist. Es ist bemerkenswert, daß sich die durch Kardiazol erzeugten pathologischen Erregungen nicht mehr in Krämpfen äußern, während die normale Motilität der Tiere nicht gestört ist.

Versuche mit Strychnin ergaben, daß auch hier bei einem Teil der Tiere das Auftreten des Strychnintetanus nach einmaliger Vorbehandlung mit HCH verhindert werden konnte.

Weitere Beobachtungen bei Versuchen mit Gammexan sprechen dafür, daß die beobachteten Funktionsstörungen weniger auf einer Kumulation als auf einer allobiotischen Wirkung beruhen.

Alle Versuche zeigten, daß eine einmalige Gabe von HCH zu lange anhaltenden Veränderungen im Organismus der Ratte führt. Die Substanzen sind auch für den Warmblüter nicht ungefährlich.

Diskussion. Lendle: Spät- und Nachschäden beobachteten wir besonders bei peroralen Gaben von HCC und erzielten dabei überadditive kumulative Effekte, erkennbar an Krampfneigung. Tägliche Gaben von 25% der letalen Einzeldosis kumulierten schnell. Die verminderte Krampfwirksamkeit von Kardiazol in Herkens Versuchen beruht vielleicht auf verzögerter Kardiazolresorption an den geschädigten Tieren.

Schneider: In akuten Versuchen an Ratten mit technischem und γHCC intraperitoneal mit einem Drittel der letalen Dosen wurde 1—2 Std nach der Injektion eine Senkung, nicht eine Erhöhung der Krampfschwelle gefunden. Nach 5—7 Std war wieder die normale Schwelle erreicht. Dabei war an mehreren Tagen keine Kumulation im Gegensatz zu peroralen Gaben zu finden.

Schlußbemerkung von Herken. a) zu Lendle: Es ist sehr unwahrscheinlich, daß die Verhinderung der Kardiazolkrämpfe auf Resorptionsstörungen beruht. Die Tiere zeigen bei den α- und β-Isomeren keinerlei Vergiftungserscheinungen. Wir haben auch den Antagonismus Kardiazol-Barbitursäurewirkung bei den mit HCH behandelten Tieren geprüft. Er war unverändert. Die Weckwirkung trat bei gleichen Kardiazoldosen auf wie bei den nicht mit HCH behandelten Tieren. Auch das spricht gegen das Vorliegen von Resorptionsstörungen.

b) zu Schneider: Kurze Zeit nach Applikation von Gammexan treten immer Erregungserscheinungen auf. McNamara und Krop haben dies durch elektroenzephalographische Untersuchungen bewiesen, so daß der von Schneider erwähnte Befund durchaus verständlich ist. Der von mir beobachtete Effekt tritt viel später ein, meist erst nach 2—3 Tagen. Für seine Auslösung ist eine bestimmte Dosis notwendig.

W. Schoetensack und J. Hann (Würzburg): Zum Angriffspunkt von Narkotika.

Die bei zahlreichen Fällen von Psychosen erfolgreiche Anwendung des Elektrokrampfes erweckte das Interesse an den physiologischen Zusammenhängen der therapeutischen Wirksamkeit. Auf Grund von Beobachtungen, daß es am narkotisierten Tier im Gefolge eines Elektrokrampfes zu erheblichen Blutdrucksenkungen kommt, wurde von einigen Autoren auf eine parasympathische Erregung und auf eine mutmaßliche Freisetzung von Azetylcholin geschlossen. Alle Versuche, Azetylcholin im Blut von Menschen nach dem Elektrokrampf nachzuweisen, verliefen jedoch ergebnislos.

Wir konnten an mit Urethan und Barbituraten narkotisierten Katzen ebenfalls eine erhebliche Blutdrucksenkung feststellen, die bei den verwendeten Stromstärken der Wirkung von 1 γ Azetylcholin entspricht. Diese Blutdrucksenkung läßt sich durch Eserin verstärken und durch Atropin aufheben, dagegen wird sie durch Vagotomie nicht aufgehoben.

Weitere Versuche an kuraresierten Katzen, die für den operativen Eingriff leicht mit Äther narkotisiert wurden, ergaben überraschenderweise ein völlig entgegengesetztes Bild. Mit den gleichen Stromstärken, mit denen wir unter Urethan und Barbituraten eine Blutdrucksenkung erzielten, erhielten wir jetzt eine Blutdrucksteigerung, die 20—100 γ Adrenalin entspricht; sie läßt sich gleich der durch Adrenalin erzeugten durch Yohimbin aufheben.

Von Interesse war nun festzustellen, ob dieser Effekt durch Urethan und Barbiturate beeinflußt werden kann. Tatsächlich ließ sich die beim kuraresierten Tier durch den Elektrokrampf erzeugte Blutdrucksteigerung durch geringe Dosen dieser Narkotika aufheben und durch höhere Dosen sogar umkehren.

Durch den Elektrokrampf kommt es also am narkotisierten Objekt zu einer Senkung, am nicht narkotisierten dagegen zu einer Steigerung des Blutdruckes und damit zu einer Freisetzung sympathikotroper Stoffe. Damit wird verständlich, daß es früheren Untersuchern nicht gelang, beim nicht narkotisierten Menschen im Gefolge eines Elektrokrampfes Azetylcholin im Blute nachzuweisen.

Unsere Befunde erinnern an die Beobachtungen von W. R. Hess, wonach bei selektiver Reizung im Bereich der Commissura posterior pressorische, bei Reizung im Bereich der Commissura anterior depressorische Blutdruckeffekte auftreten. Obgleich es sich beim Elektrokrampf natürlich nicht um einen lokalisierten Reiz handelt, ist doch anzunehmen, daß unsere geschilderten Befunde in engem Zusammenhang mit denen von W. R. Hessstehen.

Die Wirkung von Urethan und Barbituraten darf nicht allein mit einem eng umschriebenen sogenannten Wach-Schlafzentrum in Verbindung gebracht werden; nach unseren Befunden ist anzunehmen, daß die genannten Narkotika von außen herantretenden Reizen durch Störung hypothalamischer Koordinationen den sympathikotropen Charakter nehmen.

Diskussion. Hann: Nach diesen Befunden wäre praktisch zu prüfen, wie weit sich die bei Hypertonikern gefürchteten Hirnblutungen im Gefolge des Elektrokrampfes durch vorhergehende Gaben von Barbituraten vermeiden lassen, weiterhin, ob dann der therapeutische Wert des Elektrokrampfes erhalten bleibt.

R. Hotovy (Darmstadt): Zur Pharmakologie des Oxyurenmittels „Egressin".

Auf Grund früherer Arbeiten über die in vitro schädigende Wirkung von Karbaminoylcholinderivaten auf Eingeweidewürmer fußend, wurden durch Zima und Mitarbeiter über 200 Verbindungen (Urethane, von folgendem Typus abgewandelt und geprüft: $\begin{matrix} R_1 \\ R_2 \end{matrix}\!\!>\!N—CO—OR_3$ · R_1, R_2 und R_3 bedeuten darin verschiedene aliphatische, aromatische und hydroaromatische Kohlenwasserstoffreste. Im Laufe dieser Untersuchungen konnte kein Zusammenhang zwischen Konstitution und Wirkung erkannt werden. Doch wurde beobachtet, daß die Wirksamkeit einer Verbindung schwindet, wenn einer der Kohlenwasserstoffreste eine Hydroxylgruppe oder eine Aminogruppe erhielt, und daß sich alle Präparate, in denen R_1 und R_2 durch Kohlenwasserstoffreste ersetzt waren, als

unwirksam erwiesen. Alle aus dieser Reihe auf Würmer schädigend wirkenden Verbindungen enthielten am Stickstoff noch ein H-Atom (R_2 = H). Außer dieser negativen Beobachtung konnte von uns niemals die gute oder schlechte Wirksamkeit vorausgesagt werden. Aus der großen Reihe der geprüften Urethane konzentrierte sich unser Interesse auf den N-Isoamylkarbaminsäure-3-methyl-6-isopropylphenylester (Egressin), der als ein spezifisches Chemotherapeutikum gegen die Oxyureninfektion beim Menschen und Kaninchen erkannt wurde. Egressin erwies sich an Mäusen, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen bei peroraler Zufuhr als wenig toxisch. Katzen zeigten nach 20 g Egressin pro Kilogramm Körpergewicht per os nur geringe Schläfrigkeit. Eine gleichzeitige Gabe von Fetten oder Alkohol steigerte die Toxizität des Egressin bei Katzen und Hunden. Am isolierten Froschherz nach Straub stellte sich bei einer Konzentration von $1:10^4$ (Suspension) in Ringerlösung eine Verkleinerung der Ventrikelkontraktionen auf die Hälfte ein. Am isolierten Rattendarm nach Magnus konnte eine Abschwächung der Dorylwirkung (Doryl $1:8 \cdot 10^7$) auf die Hälfte durch Egressin $1:10^5$ nachgewiesen werden. Nach intravenöser Verabreichung von Egressin wird der Blutdruck narkotisierter Katzen anhaltend gesenkt. An Ratten, die 15 Tage lang täglich 2 g E./kg per os mit der Schlundsonde zugeführt erhielten, konnten histologisch keine Organveränderungen und keine Beeinflussung des Stoffwechsels festgestellt werden. Bei der Passalurus-Infektion des Kaninchens konnte bei einer Dosierung von 0,1 g/kg per os eine Entwurmung erzielt werden; bei der Katze wurde erst ab 0,4 g/kg der Abgang von Askariden, bei höherer Dosierung der von Ankylostoma und bei höchster Dosierung (20 g/kg) der von Taeniae beobachtet.

Diskussion. Heubner: Das Einnisten der Parasiten in der Schleimhaut des Darms macht Beobachtungen meines Vaters verständlich, der im Greisenalter nach dem ersten Weltkrieg viele Monate an Oxyuriasis litt — ohne Erfolg alle damaligen Mittel durchprobierte —, dabei aber mit aller Gewissenhaftigkeit des Gelehrten bei sich selbst den Abgang der Würmer kontrollierte. Er fand, daß auch ohne Behandlung ein Schub nach etwa einer Woche nachließ, um nach einer Pause von rund 5 Wochen wiederzukehren, was sich regelmäßig wiederholte. Der Erfolg eines Mittels kann also nur am Ausbleiben dieser „Rezidive" erkannt werden.

Erhardt: Das Auftreten von Relapsen im Sinne von Schüffner nach an sich wirksamen Oxyurenmitteln kann dadurch bedingt sein, daß die Oxyurenlarven zahlreichen Substanzen gegenüber resistenter sind als die Geschlechtstiere (Oelkers, Erhardt), oder kann durch besondere biologische Eigentümlichkeiten während der Entwicklung der Oxyuren im Wirtsorganismus ermöglicht werden. So leben z. B. die sogenannten dritten Larvenstadien der Pferdeoxyuren (Einigk) und der Kaninchenoxyuren (Boecker) in den Schleimhautkrypten der Darmwand und sind hier für alle Oxyurenmittel praktisch unangreifbar. Die Menschenoxyurenlarven verhalten sich nach bisher noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen offenbar ähnlich. Durch Selbstversuch (massive Infektion mit nachfolgender Appendektomie) wird die Frage des regelmäßigen Vorkommens der Larven auch

in den Schleimhautkrypten des Menschendarmes experimentell zu lösen sein. — Sollte die angeführte Hypothese stimmen, so wäre in diesem Verhalten der Larven die biologische Begründung gegeben für die alte klinische Erfahrungstatsache, daß selbst wirksame Substanzen entweder in Form einer längeren Kur oder nach bestimmten Intervallen wiederholt gegeben werden müssen, falls derartige Larvenstadien zur Zeit der Applikation des Mittels in der Darmschleimhaut vorhanden sind.

H. Haas (Mannheim): Vergleichende Untersuchungen mit Analgetika.

Vergleichende Untersuchungen mit Morphin, Dilaudid, 3-Oxy-N-Methyl-Morphinan, Dolantin und Amidon in Versuchsanordnungen, die eine Festlegung von Intensitäts-Zeitkurven gestatten, ergeben bei der Messung der analgetischen Wirkstärke an der Ratte nach der Wolff-Hardy-Methode, daß nicht nur Unterschiede in bezug auf die unteren wirksamen Grenzschwellendosen, sondern auch in der Dauer und Intensität der Wirkung bestehen. Dilaudid übertrifft den Morphineffekt, wenn man die untere wirksame Grenzschwellendosis zugrunde legt, um das 10fache, Morphinan um das 5fache. Bei Steigerung der Dosis erzielen beide Präparate stärkere und länger dauernde analgetische Effekte als Morphin. Bei Morphin selbst besteht eine deutliche Abhängigkeit der Intensitäts-Zeitkurven von der Dosis; Dolantin und Amidon zeigen ähnliche Verhältnisse, ohne allerdings im Maximum selbst bei höherer Dosierung den optimalen Morphineffekt zu erzielen.

Die atemschädigende Wirkung (Messung am Kaninchen) und das Verhalten der Motilität (Zitterkäfigversuch an der Maus) sind bei Morphin, Dilaudid und Morphinan im zeitlichen Ablauf und in der Wirkungsintensität von der Dosis abhängig. Die unteren Grenzschwellendosen liegen für diese Substanzen unterhalb der analgetischen Wirkdosis. Dolantin und Amidon zeigen am Kaninchen kaum atemschädigende Eigenschaften. Außerdem fällt beim Dolantin der sedative Einfluß in niedriger Dosierung, unterhalb des analgetischen und im schwach schmerzstillenden Bereich, etwa gleich stark aus. Erst bei erheblicher Vergrößerung der Dosis nimmt die Wirkungsdauer zu. Beim Amidon setzt die Motilitätsdämpfung erst in einem Dosierungsbereich oberhalb der analgetisch wirksamen Grenzschwelle ein.

Die Auswertung des Schwanzphänomens an der Maus läßt nur in beschränktem Umfange eine vergleichende Aussage über die quantitative Wirkstärke der einzelnen Substanzen zu. Gegenüber Dilaudid zeigt die Maus in diesem Test eine außerordentliche Empfindlichkeit, die weit oberhalb der übrigen Versuchsreihen liegt. Die Diurese wird von allen Präparaten nur im toxischen Bereich verändert.

Morphin und Dilaudid zeigen die größte therapeutische Breite, wenn man die untere analgetische Wirkdosis im Vergleich zur 50%igen LD setzt. Diese Aussage erfährt aber eine Einschränkung, wenn man die Atemschädigung und den Einfluß auf die Motilität als Maßstab zugrunde

legt, bei denen das Morphin, insbesondere im Vergleich zu Dolantin und Amidon, am ungünstigsten abschneidet.

Bei der Auswertung am isolierten Meerschweinchendarm vermögen Morphin und Dilaudid den Histamin-, Azetylcholin- und $BaCl_2$-Krampf nicht zu unterdrücken; Morphinan besitzt nur schwache antagonistische Wirksamkeit; Dolantin und Amidon sind gegenüber der Azetylcholin- und $BaCl_2$-Kontraktur deutlich wirksam: der Histaminkrampf wird von Dolantin, nicht aber von Amidon unterdrückt.

Trotz grundsätzlich gleichmäßiger Wirkungsweise und gleichartigen Wirkungscharakters lassen sich somit im Tierexperiment deutliche Unterschiede in der Gruppe der Morphinverwandten nachweisen, die den klinischen Erfahrungen und Aussagen weitgehend parallel gehen und für die Angrenzung und Differenzierung des Einsatzbereiches der einzelnen Stoffe Anhaltspunkte liefern.

W. Neumann und E. Habermann (Würzburg): Über parasympathicomimetische Wirkungen des Bienenhonigs.

Am eserinisierten Blutegelmuskel und isolierten Meerschweinchendarm wirken Honiglösungen kontrahierend. Der Blutdruck von narkotisierten Hunden, Katzen und Kaninchen wird, wie schon 1948 gefunden wurde, bei intravenöser Injektion schnell und kurzdauernd gesenkt. Durch Atropin lassen sich die Wirkungen auf den Meerschweinchendarm und Blutdruck aufheben. Die Effekte können durch ein Azetylcholin-Invertzucker-Modell weitgehend reproduziert werden; sie werden durch Physostigmin verstärkt.

Das aktive Prinzip stammt nicht aus dem Blütennektar; denn es findet sich auch in dem sogenannten Zuckerwasserhonig, der von den Bienen eingelagert wird, wenn man sie ausschließlich mit Zuckerwasser füttert. Es ist also wahrscheinlich ein Produkt der Bienen, vielleicht aber auch von Kommensalen. Das Prinzip steht den Cholinestern mindestens sehr nahe, ist dialysabel und wird durch Erhitzen mit Lauge ebenso wie ein Azetylcholin-Invertzucker-Modell zerstört. Auch Behandlung mit Cholinesterasepräparaten macht Honiglösungen unwirksam, aber anscheinend etwas langsamer als das Azetylcholin-Zucker-Modell. Andererseits kann die Honigwirkung durch Azetylierung erheblich gesteigert werden. 1 g Naturhonig entspricht wirkungsmäßig etwa 0,2—2,5 γ Azetylcholin. Die Wirkung des Zuckerwasserhonigs bewegt sich in der gleichen Größenordnung.

H. Oettel (Shanghai-Ludwigshafen): Über die Morphinausscheidung von Opiumrauchern und Normalen.

Opium als Genußmittel wird in der Literatur sehr verschieden, aber meist unzutreffend beurteilt. Einige Autoren halten das Opiumrauchen für einen recht harmlosen Genuß. Der größte Teil der Alkaloide werde

bei der Glimmtemperatur zerstört, so daß es dem täglichen Frühschoppen und dem Genuß eines Schweizer Stumpen gleich gestellt werden könnte.

Die andere Seite dagegen bezeichnet das Opiumrauchen als staatsgefährliches, die Todesstrafe erheischendes Laster, und es wird dem Rauchopium eine verhängnisvolle, ganz spezifisch betäubende Wirkung zugesprochen, für die neben Morphin unbekannte, erst bei der Verbrennung des Opiums entstehende Stoffe verantwortlich sein sollen.

Diese, angeblich sogar rassenmäßig bedingte Sonderstellung des Opiumrauchers, wird z. B. von Starkenstein folgendermaßen formuliert:

„Der Morphinist und der Opio*phage* wollen ins Gleichgewicht kommen, wollen der Abstinenz entgehen. Sie wollen sich, so schlecht es auch geht, arbeitsfähig erhalten. Opium*raucher* dagegen fühlen sich im ‚künstlichen Paradies', in ihrem Nirwana, den schönsten Träumen hingegeben. Sie versetzen sich der Welt gegenüber in einen vollkommenen Gleichgültigkeitszustand und fühlen sich von jedweder Sorge des Alltags befreit. So verbringen sie täglich viele Stunden liegend, nur dem Genuß der Opiumpfeife hingegeben."

Richtig an dieser Schilderung ist nur die Angabe, daß der Opiumraucher beim Genuß seiner Pfeife liegt. Das tut er nicht nur in den sogenannten Opiumhöhlen, sondern auch im Laboratorium, wohl mit Rücksicht auf die recht umständliche Prozedur des Rauchens.

Der Opiumraucher braucht, abgesehen von der Opiumpfeife, eine Anzahl Instrumente: vor allem die Öllampe mit einer offenen Flamme, einen kleinen Löffel zum Eindicken des Extraktes, Nadeln und Pinzette zur Präparation der Opiumpaste über der Flamme und einen Schaber zur Entfernung der sogenannten „Asche" aus dem Pfeifenkopf.

In Mittelchina wird meist ein bereits eingedicktes Opiumextrakt „Chandu" verwendet, das über der Opiumlampe zapfenförmig geknetet, auf die wenige Millimeter weite Öffnung des steinernen Kopfes der Opiumpfeife geklebt, und schließlich mit der heißen Nadel durchbohrt wird. Zum Rauchen wird der Opiumkegel über der Lampe vorsichtig abgeschmolzen und verkocht, und durch kräftiges Ansaugen der heißen Luft der Ölflamme werden nun jeweils einige Tröpfchen des heißflüssigen Opiums durch die enge Opiumdüse in den erweiterten, luftverdünnten Hohlraum des Pfeifenkopfes gesprüht. Hier entsteht durch Heißluft-Schnelltrocknung des Extrakt-Sprays der Opiumrauch, der durch das etwa 40 cm lange Rohr inhaliert wird.

Beim Opiumrauchen wird also keine Pfeife angezündet, es findet auch keine trockene Destillation oder gar ein Verglimmen des Substrates wie beim Tabakrauchen statt, sondern die Chinesen bedienen sich seit einigen 100 Jahren empirisch eines „Autodispert-Verfahrens", wobei die im Opiumextrakt enthaltenen Alkaloide unverändert und praktisch vollständig in den sogenannten Rauch übergehen müssen. Da der Opium-

rauch inhaliert und ziemlich lange in der Lunge behalten wird, sind die Voraussetzungen für die Aufnahme beträchtlicher Morphinmengen gegeben. Voraussetzung ist allerdings, daß der Raucher die schwierige Kunst des vorsichtigen Abkochens und Versprühens ohne Verbrennen des Extraktes über der offenen Flamme beherrscht.

Wieviel Morphin beim Opiumrauchen zur Resorption kommt, wurde durch quantitative Bestimmung des im Harn ausgeschiedenen Morphins geprüft, das beim isoelektrischen Punkt extrahiert und nach sorgfältigster Reinigung als Vanadin-Molybdän-Komplex nephelometriert wurde, wobei Mengen bis herab zu einigen γ in 10—50 cm³ Harn quantitativ erfaßbar sind.

Die einfache tägliche Kontrolle der Morphinausscheidung nach der Injektion sehr großer Morphinmengen wird am Beispiel einer Morphinistin gezeigt, die zur Bekämpfung ihrer Abstinenzerscheinungen täglich etwa 350 mg Morphin brauchte. Die 20 Tage lang verfolgte Ausscheidung betrug in diesem Falle auch während des Entzuges, unabhängig von der zugeführten Morphinmenge, durchschnittlich 6%.

Viel zweckmäßiger als die tägliche Untersuchung ist die 1—2stündliche Prüfung des Harns, wie das Beispiel eines Opiumrauchers zeigt. Nach Kontrolle seiner Morphinfreiheit wurde zunächst die zur Beseitigung aller Abstinenzerscheinungen notwendige, also kurative Morphindosis (135 mg) gespritzt. Am nächsten Tag wurde ein Rauchversuch im Laboratorium ausgeführt, bei dem der Raucher seine maximal verträgliche Opiumdosis (10,0 = 3 Tjiän) verbrauchte. Nachdem in den folgenden Tagen durch die bekannten Methoden ein völliger Entzug erreicht war, wurde noch einmal eine nunmehr kleinere Morphindosis (50 mg) gespritzt, die jetzt bereits unerfreuliche Nebenwirkungen hervorrief, also als subtoxisch bezeichnet werden kann.

Dabei sollte zugleich die Frage geklärt werden, ob eine subtoxische Morphindosis vom entwöhnten Organismus anders verwertet wird, als die zur Bekämpfung der Abstinenzerscheinungen vorher notwendige kurative Dosis.

In beiden Fällen wurde der gleiche Teil, etwa 11% Morphin ausgeschieden. Da im Rauchversuch 18 mg Morphin im Harn gefunden wurden, ergibt sich weiterhin, daß der Raucher aus 10 g Rauchopium etwa 165 mg Morphin resorbiert hatte. Auch in anderen Versuchen wurde gefunden, daß der geübte Opiumraucher aus je 1 Tjiän (= 3,5 g) Rauchopium etwa 50 mg Morphin, also mit einer Pfeife (= 0,7 Opium) gerade die übliche therapeutische Dosis von 10—15 mg Morphin aufnimmt.

Die Ausscheidung der Hauptmorphinmenge erfolgt stets in wenigen Stunden, ziemlich unabhängig von der Harnmenge, da die Niere zu sehr hoher Morphinkonzentration fähig ist.

Bei einem anderen Raucher, der laut Ausscheidung von 11,5 mg etwa 100 mg Morphin aus 8 Opiumpfeifen (= etwa 5,0 Opium) resorbierte,

wurden 20 mg Morphin, die die Abstinenzerscheinungen eben beseitigten, lediglich etwas schneller ausgeschieden, als die gleiche Dosis vom entwöhnten Organismus 2 Wochen später.

Ebenso schied der gewöhnte und entwöhnte Organismus von Mengen bis 60 mg Morphin subkutan immer etwa den gleichen Teil aus, der gewöhnte Organismus nur in etwas kürzerer Zeit.

Ob dieser Unterschied auf einer schnelleren Entgiftung beruht, wurde durch Bestimmung des freien und gebundenen, also im Harn nach Hydrolyse freiwerdenden Morphins geprüft.

In Versuchen an normalen, nicht gewöhnten Patienten wurden nach Injektion von 25 bzw. 30 mg Morphin etwa 10% als *freies*, 30% als *gebundenes* Morphin im Harn gefunden. Das Verhältnis von freiem zu gebundenem Morphin war aber in den einzelnen Ausscheidungsperioden recht verschieden. Besonders bei der zweistündlichen Kontrolle wird deutlich, wie das gebundene Harn-Morphin nur allmählich ansteigt und erst in der 4. bis 6. Std ein Maximum erreicht.

Beim gewöhnten Organismus übertraf das gebundene Harn-Morphin bereits in den ersten Stunden das freie Morphin um das Vielfache; hier betrug das Gesamtverhältnis bei der kurativen Dosis von 60 mg 1:4,5, später während der Entwöhnung nur 1:3,4. Beim Opiumrauchen wurde sogar 6 mal mehr Morphin in gebundener als in freier Form ausgeschieden.

Ein charakteristisches Merkmal der Toleranz scheint also die beschleunigte und verstärkte Koppelung und Ausscheidung, d. h. eine schnellere Entgiftung des Morphins zu sein.

Die geringe Morphinausscheidung bei manchen Opiumrauchern zeigt, daß keineswegs immer aus einer Opiumpfeife 10 mg resorbiert werden, sondern daß es auch viel unökonomischere Raucher gibt.

Unökonomisch ist das Opiumrauchen überhaupt, denn auch die bei kunstgerechtem Rauchen aufgenommene Morphinmenge kostet in Form des Rauchopiums mindestens das 20fache des reinen Alkaloids.

Der hohe Preis und die umständliche Prozedur des Opiumrauchens erschweren aber andererseits eine schnelle Steigerung der Dosis, wie sie für den Morphinisten leicht möglich ist und zum Verhängnis wird. Wollte sich ein Opiumraucher die Dosis eines typischen Morphinisten zuführen, so müßte er täglich 5—10 Std nur dem Rauchen widmen; das kommt aber nur in den allergrößten Ausnahmefällen vor. Meist richtet sich der Opiumraucher schneller finanziell als somatisch zugrunde, wie ein Alkoholiker, der seinen Bedarf ausschließlich aus Sekt statt aus Kornschnaps decken wollte.

Das Opiumrauchen verhält sich zum Morphinspritzen wie der Sektgenuß zum Schnapssaufen: Es ist nichts anderes als eine höchst luxuriöse Form des Morphinismus.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 167—176 (1951).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Versuche über die Wirkung lipotroper Substanzen bei der durch Tetrachlorkohlenstoffvergiftung erzeugten Fettleber des Hundes.

Von
Fritz Hartmann und Fred Leuschner.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Juni 1950.)

Der Anstoß, der Verfettung der Leber eine erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen, ging von den Erfahrungen über die experimentelle Leberverfettung aus, die von Fisher[1], sowie von Allan[2] und Mitarbeitern am pankreaslosen Hund zuerst beobachtet wurde. In Rattenversuchen zeigte Best[3], daß das die Leberverfettung verhütende Prinzip des Pankreas weder Lezithin noch das gleichwirksame Cholin war, sondern ein Ferment, das aus Proteinen Methionin freisetzt und „Lipocaic" genannt wurde. Vom Methionin hatten schon McKibbin, Thayer und Stare[4] gezeigt, daß es Cholin in der Nahrung zu ersetzen vermag. Das gleiche gilt auch in geringem Maße für das Betain. Das wesentliche dieser lipotropen Substanzen, so genannt, weil unter ihrem Einfluß in die Leber eingelagertes Fett mobilisiert werden kann, ist, daß sie cholinhaltig sind, wie z. B. das Lezithin, oder Vorstufen des Cholins darstellen, d. h. CH_3-Gruppen für die Synthese des Cholins bereitstellen können. Der CH_3-Gruppe ist deswegen von Abderhalden[5] Vitamincharakter zuerkannt worden. Juckes[6] hat diese Zusammenhänge übersichtlich dargestellt.

Der Wirkungsmechanismus der lipotropen Substanzen wird aus der Betrachtung des Lipoidstoffwechsels verständlich. Nach den gegenwärtigen Vorstellungen werden die nach der Resorption im Darm in die Fettdepots gelangten Neutralfette vorwiegend in der Leber weiterverarbeitet. Dem Cholin kommt in den dort ablaufenden Umbauprozessen der Neutralfette in Lipoide eine besondere Bedeutung zu, da 95% der Blutlipoide cholinhaltig sind. Versuche mit dem Phosphorisotop P^{32} haben gezeigt, daß die Geschwindigkeit des Einbaues des anorganischen Phosphors in die Plasmaphosphatide vom Cholingehalt der Nahrung abhängig ist[7]. Am größten war in diesen Versuchen der Gehalt der Phosphatide an P^{32} in der Leber. Das weist neben der Tatsache, daß nach Ausschaltung der Leber aus der Blutzirkulation der Plasmaphosphatidspiegel sinkt[8], auf eine zentrale Stellung der Leber in der Synthese von Lezithin und Sphingomyelin hin. Die Geschwindigkeit des Umsatzes der cholinhaltigen Phosphatide wird durch die kurze Halbwertszeit des Cholins von 18 Tagen unterstrichen[9]. Diese

Zusammenhänge erklären einen Teil derjenigen Veränderungen, die sich im Tierversuch unter Cholinmangel in der Leber, oft auch in der Niere entwickeln: Verfettung, Nekrosen, Blutungen, Fibrose. Die Verfettung tritt namentlich dann in den Vordergrund, wenn neben dem Cholin- oder Methioninmangel eine Vitamin-B_2-arme, fettreiche Kost gegeben wird[10]. Sie läßt sich verhindern, wenn Kasein, Methionin, Cholin oder Cystin-Betain zugefüttert wird[11]. Auch der normale Fettgehalt der Leber läßt sich auf $\frac{1}{3}$ des Ausgangswertes senken[12]. Der Mechanismus dieser ernährungsbedingten Art von Leberverfettung ist so vorzustellen: Beim Mangel an Cholin oder dessen Vorläufer können die in die Leber aus den Depots transportierten Neutralfette nicht in die cholinhaltigen Plasmaphosphatide Lezithin und Sphingomyelin umgebaut werden. Deshalb können sie weder verbrannt noch aus der Leber wieder abgegeben werden. Das zeigen Untersuchungen von Stetten und Salcedo, die am Cholinmangelhund deuteriumhaltiges Fett verfütterten und dieses in der Leber angehäuft fanden[13]. Leberfettanalysen bewiesen, daß es sich tatsächlich bei der Leberverfettung um Neutralfettablagerungen handelt[14].

Wir gingen bei eigenen Untersuchungen von folgenden Überlegungen aus: wenn die Leber primär Neutralfett einlagert, da sie aus irgendeinem Grunde der Synthese der Phosphatide nicht mehr fähig ist, so müssen diese im peripheren Blut absinken. Es müssen also Beziehungen zwischen dem Neutralfettgehalt der Leber und dem Phosphatidgehalt des Blutes auffindbar sein, die durch die bisherigen Versuche noch nicht zweifelsfrei geklärt werden konnten[15, 16]. Um diese Frage zu klären, wurden zunächst Versuche an tetrachlorkohlenstoffvergifteten Hunden gemacht, bei denen unter der Vergiftung und der anschließenden Erholung und Behandlung mit lipotropen Substanzen der Plasmaphosphatidspiegel, das histologische Bild der Leber und in Einzelfällen die Fettzusammensetzung der Leber untersucht wurden. Wir beschränkten uns auf die Bestimmung der cholinhaltigen Phosphatide, da sie 95% der Plasmaphosphatide ausmachen und gemäß der theoretischen Voraussetzung nur bei ihnen ein Effekt der lipotropen Substanzen erwartet werden kann.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an 28 Hunden durchgeführt, die in 5 Gruppen eingeteilt wurden. Gruppe 1: Tiere, die während der Tetrachlorkohlenstoffgaben verstarben, Gruppe 2: während der Tetrachlorkohlenstoffbehandlung getötete Tiere, Gruppe 3: nach Absetzen der Tetrachlorkohlenstoffgaben getötete Tiere, die eine verschieden lange Erholungszeit durchgemacht hatten, Gruppe 4: Tiere, die nach Absetzen des Tetrachlorkohlenstoffs mit lipotropen Substanzen behandelt und dann getötet wurden, Gruppe 5: Hunde, die während Verabreichung von Tetrachlorkohlenstoff mit lipotropen Substanzen behandelt wurden. Der Tetrachlorkohlenstoff wurde in einer Menge von 4 cm^3/kg/Tag durch die Schlundsonde verabreicht. Cholin bzw. Methionin wurde in einer Dosis von 0,4 g/kg/Tag ebenfalls durch die Sonde zum Teil auch intravenös gegeben. Die cholinhaltigen Plasmaphosphatide wurden nach Lintzel und Monasterio[17] bestimmt. Die Kost der Hunde war eiweiß- und fettarm, dagegen kohlehydratreich. Sie bestand vorwiegend aus Küchenabfällen, d. h. Kartoffeln, Gemüse, Brot. Vitamin-B-Komplextabletten wurden dem Fressen zugefügt. Der mehrfach bestimmte

Gehalt des Fressens an cholinhaltigen Phosphatiden war etwa 6,4 mg%. Die Hunde blieben 16 Std vor den Tetrachlorkohlenstoffgaben nüchtern und tranken auch kein Wasser. Nach der Behandlung wurde reichlich Wasser angeboten.

Ergebnisse.

Die tetrachlorkohlenstoffbehandelten Hunde zeigten im allgemeinen folgendes Bild: Während der ersten Versuche, in denen wir CCl_4 intravenös gaben, traten vor allem Krämpfe und Atemnot schon bei geringer Dosierung in den Vordergrund. Die Verabreichung durch die Magensonde hatte den Vorteil, daß das CCl_4 über die Pfortader unmittelbar in die Leber gelangte. Entsprechend fielen die zentralen Symptome der CCl_4-Vergiftung fort und die Gaben wurden zunächst gut vertragen. Brechreiz wurde vermieden, wenn man die Hunde erst 1 Std nach Tetrachlorkohlenstoffverabreichung fütterte. Die Resorption findet offenbar langsam statt, denn bei Hunden die am gleichen Tage starben, fanden sich nach 4 Std noch CCl_4-Reste im Dünndarm. Die Freßlust ließ etwa 24 Std nach der ersten Tetrachlorkohlenstoffverabreichung nach, auch zeigte sich allgemeine Mattigkeit. Die Tiere lagen apathisch im Käfig. Am 3. Tage traten gewöhnlich Teerstühle auf, gelegentlich war auch frisches Blut dem Stuhl beigemischt. Ebenfalls am 3. Tag wurde Bilirubin im Urin ausgeschieden. Ein Einfluß des reinen Hungers ohne Tetrachlorkohlenstoff auf Plasmalezithin und Sphingomyelin konnte für die von uns verwandten Versuchszeiten nicht nachgewiesen werden.

Die Tab. 1 u. 2 berücksichtigen nur die Tiere, deren Leber histologisch untersucht wurde. Bei der Sektion fand sich vor allem bei den frischvergifteten Tieren folgender Befund: am Magen gelegentlich, am Dünndarm wie am Dickdarm je in etwa der Hälfte der Fälle hämorrhagische Entzündung mit Erosionen und Blutungen. Ikterische Verfärbung des Bindegewebes, infarktartige Blutungen in der Lunge, subpleural, subepi- und endokardial sowie gelegentlich unter die

Tabelle 1.

Versuchsbedingungen	Protokoll-Nr.	Dauer der Einwirkung von		Cholinhaltige Plasmaphosphatide in mg % u. in % des Ausgangswertes	
		CCl_4 4 cm³/kg/die	Cholin bzw. Methionin 0,4 g/kg/die	mg%	%
Tötung nach CCl_4-Gaben	1	2	—	137,1	88,5
	2	3	—	98,4	68,5
	3	4	—	83,0	44,0
	4	1	—	184,2	81,9
CCl_4-Gaben, dann Behandlung mit lipotropen Substanzen. Tötung	5	4	3	193,3	74,5
	6	5	3	136,2	96,6
	7	4	5	209,7	96,6
Gleichzeitig Gaben von CCl_4 und lipotropen Substanzen	8	2	2	233,0	100,0
	9	3	3	107,9	70,2
	10	3	3	135,2	63,9
	11	4	7	189,1	94,1
	12	4	8	178,2	88,3
	13	4	8	141,7	89,7
	14	3	9	209,7	102,0
	15	4	10	203,9	93,2

Nierenkapsel. An den Nieren traten auch manchmal anämische Infarkte auf. Die Leber zeigte häufig makroskopisch Blutverteilungsstörungen, die sich an der Oberfläche wie auf dem Schnitt als landkartenförmige hyperämische Bezirke manifestierten. Je nach dem Grad der Verfettung war diese schon makroskopisch sichtbar.

Das histologische Bild war uneinheitlich: eine Verfettung weisen alle Tiere, die mit CCl_4 behandelt wurden, auf. Sie ist meist intrazellulär, anfangs feintropfig, später großtropfig. Im fortgeschrittenen Stadium finden sich auch feinkörnige Fettablagerungen außerhalb der Zellen. Die Verfettung ist meist diffus

Abb. 1.

Abb. 2.

Abb. 1. Spuren von Verfettung bei gleichzeitiger Gabe von CCl_4 und Cholin über 3 Tage, daran anschließend noch 3 Tage Cholin. Der Gallengang rechts unten weist nicht einmal die physiologische Verfettung auf.

Abb. 2. Zentrale Nekrose und starke Verfettung der noch erhaltenen Leberzellen nach 4 Tagen CCl_4.

Tabelle 2.

Versuchsbedingungen	Protokoll Nr.	Dauer der Einwirkung von CCl_4	Dauer der Erholung nach Absetzen von CCl_4 ohne Behandlg. m. lipotr. Substanzen	Cholinhaltige Plasmaphosphatide in mg% und in % des Ausgangswertes
CCl_4-Gaben. Nach Absetzen von CCl_4-Erholung ohne Behandlung. Tötung.	16	4	3	72,0 46,5
	17	5	2	106,0 62,2
	18	4	8	193,0 119,2

ohne Bevorzugung der Gebiete um die Zentralvene oder der Peripherie. Starke Verfettung weisen auch die bei Hunden bereits physiologisch neutralfettspeichernden Gallengangsepithelien auf. Neben der Verfettung kommen Nekrosen zur Beobachtung. Ihr Auftreten steht in keinem Zusammenhang mit der Menge des verabreichten Tetrachlorkohlenstoffs. Häufig finden sich in den Präparaten Vorstadien der Nekrose mit Dissoziation der Leberzellbälkchen, entzündlichen Infiltraten, Blutungen, Vakuolisierung der Leberzellen, Verwaschenheit der Zellgrenzen. Die ausgeprägte Nekrose hat ihren Sitz meist zentral, ist durch totalen Zelluntergang und Verlust der Kerne und Zellgrenzen sowie durch schwere Blutungen und entzündliche Infiltrationen, die vorwiegend im Gefäßbindegewebe

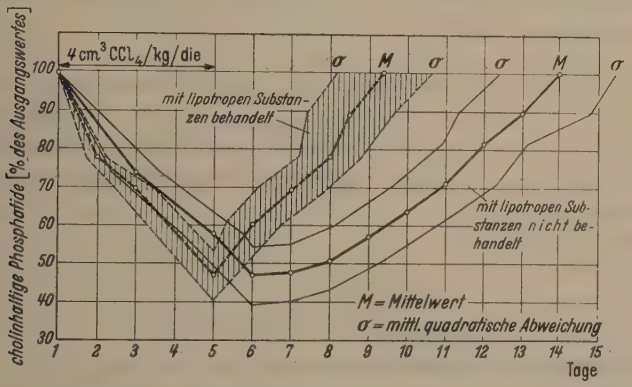


Abb. 3. Die Kurven veranschaulichen den Verlauf der cholinhaltigen Plasmaphosphatide während Tetrachlorkohlenstoffeinwirkung und während der Erholung der einen Gruppe von Tieren (o—o) und der Behandlung mit lipotropen Substanzen der anderen Gruppe von Hunden (o·····o). Für beide Kurven ist die mittlere Dispersion miteingezeichnet. Die Ausgangswerte zu Beginn der Versuche wurden gleich 100% gesetzt. Man sieht deutlich, daß auf das Absinken der Plasmaphosphatide unter CCl_4 die lipotropen Substanzen ohne Erfolg sind. Dagegen kehrt die behandelte Gruppe nach Absetzen des CCl_4 eher zur Norm zurück als die unbehandelte Gruppe. Der mittlere Unterschied der Erholungsphasen von 4 Tagen ist statistisch gesichert.

und in der Gefäßwand liegen, gekennzeichnet. Fett findet sich in diesen Nekrosen nicht mehr, selten in feinkörniger Form. Dagegen sind die noch erhaltenen peripheren Teile der Leberacini stark verfettet.

Bei der Beurteilung der Wirkung der lipotropen Substanzen kann gesagt werden, daß die Ausbildung von Nekrosen unbeeinflußt bleibt. Auch der Tod im Koma, welcher die Folge des nekrotischen Zusammenbruchs des größten Teils der Leber ist, konnte bei Tieren, die CCl_4 und lipotrope Substanzen gleichzeitig erhielten, nicht verhütet werden. Wie die Befunde der Tab. 1 und die Beispiele der nachfolgenden Abb. 1 u. 2 jedoch zeigen, hat die Behandlung mit lipotropen Substanzen eine Wirkung auf die Beseitigung der unter Tetrachlorkohlenstoffgaben eintretenden Leberverfettung.

Man ersieht aus diesen Abbildungen den Effekt der lipotropen Substanzen. Er macht sich am deutlichsten bemerkbar, wenn nach Absetzen des Tetrachlorkohlenstoffs Cholin oder Methionin zur Förderung der Entfettung gegeben wird. Diese kann so weit gehen, daß auch die

physiologische Verfettung der Gallengangsepithelien verschwindet. Unsicher ist die eine Verfettung verhütende Wirkung der lipotropen Substanzen bei gleichzeitiger Gabe von CCl_4 und Cholin bzw. Methionin.

Einen guten Einblick in die lipotrope Wirkung von Methionin und Cholin gibt die Mittelwertkurve des Verlaufs der cholinhaltigen Phosphatide unter der Vergiftung und der Behandlung in Abb. 3.

Analysen der Leberfette, die in Einzelfällen durchgeführt wurden, zeigten, daß es sich bei der Leberverfettung tatsächlich um Ablagerung von Neutralfett handelt. Zwei Beispiele sind in der nachfolgenden Tab. 3 zusammengestellt.

Tabelle 3.

	Gesamtlipoide der Trockensubstanz	Neutralfett in % der Trockensubstanz	Phosphatide in % der Trockensubstanz
Normale Hundeleber . . .	8,6%	42%	21,5%
Hundeleber nach 4 Tagen CCl_4-Vergiftung	24,0%	60%	4,4%

Besprechung der Ergebnisse.

Das allgemeine pathologisch-anatomische Bild entsprach den in der Literatur niedergelegten Befunden. Unsere besondere Aufmerksamkeit galt der Verfettung, nachdem Himsworth und Glynn[41] an der Rattenleber gezeigt hatten, daß der Tetrachlorkohlenstoff primär am Gefäßapparat angreift: Die Folge des Gefäßspasmus ist eine Anoxämie des Lebergewebes. In diesen Stadien erfolgt die Fettinfiltration. In einem circulus vitiosus soll die Volumzunahme der verfetteten Leberzelle eine erneute Einengung des interlobulären Kreislaufs veranlassen. So dauert die Anoxämie der Leber fort, auch wenn das schädliche Agens nicht mehr zugeführt wird. Der toxipathische Mechanismus wird durch einen trophopathischen abgelöst. Im Verlaufe dieses Geschehens entwickelt sich fettige Infiltration- fettige Degeneration-Nekrose.

Der bindegewebige Ersatz der untergegangenen Leberzelle führt zu der von Bollmann und Mann erzeugten Zirrhose vom Laennecschen Typ. Die Bedeutung der Leberdurchblutung geht auch aus Versuchen von Mann hervor, der beim Eckfistelhund eine schlechte Regenerationsfähigkeit der teilresezierten Leber und eine starke Herabsetzung der Resistenz gegenüber Tetrachlorkohlenstoff fand.

Die Verfettung als Folge einer Durchblutungsstörung kann verschiedene Ursachen haben. Gewöhnlich deutet man sie als Folge der Anoxämie. Jedoch kann es sich auch um eine mangelhafte Versorgung der Leberzelle mit Substanzen handeln, die den Fettumsatz regeln, wie z. B. die lipotropen Stoffe Cholin, Methionin, Betain. Für diese Auffassung sprechen die Tierexperimente, in denen gezeigt werden konnte, daß

die auf verschiedenen Wegen erzeugte Leberverfettung mit deren Folgen durch lipotrope Substanzen verhindert oder beseitigt werden konnte.

Dies gelang bei fettreicher eiweißarmer Kost[29, 30] an der Ratte, am Hund[31], bei Vergiftungen mit Tetrachlorkohlenstoff[32, 33-35], Marphasen[36], Chloroform[37] und Äthylendichlorid[38]. Analysen des Leberfettes zeigten, daß es sich in diesen Versuchen um eine Vermehrung von Neutralfett handelte, während Phosphatide, freies und verestertes Cholesterin unverändert blieben. Unsere eigenen Analysen bestätigen diese Befunde.

Die in dieser Arbeit vorgelegten histologischen Ergebnisse ergänzen das für die CCl_4-Vergiftung Bekannte, vor allem für das Stadium der Verfettung. Fett sahen wir nur in den erhaltenen Leberzellen. Für das zeitliche Auftreten der Verfettung oder Nekrosen können wir keine Regel angeben. Wir können auch keine Symptome finden, die beweisen, daß der Nekrose immer eine Verfettung vorausgehen muß. Vielmehr scheinen hier unabhängig voneinander laufende Arten der Leberzellschädigung vorzuliegen. Die Nekrosen treten auch auf, wenn die Verfettung durch gleichzeitige Gaben von Tetrachlorkohlenstoff und Cholin oder Methionin nicht so stark wie gewöhnlich waren. Sie ganz zu verhindern gelang in Übereinstimmung mit Benard, Gajdos-Torok und Gajdos[39] nicht. Dagegen ist der die Verfettung nach Absetzen des CCl_4 beseitigende Effekt der lipotropen Substanzen histologisch deutlich zu erkennen. Zu einem Zeitpunkt, etwa nach 5 Tagen der Behandlung, in dem die unbehandelte Leber noch eine starke Verfettung zeigt, läßt sich bei den behandelten Tieren Fett überhaupt nicht, oder nur in Spuren nachweisen. Diese Fettmobilisation unter der Einwirkung des Cholins oder Methionins kann bis zum Verschwinden der physiologischen Fettablagerung in den Gallengangskapillaren gehen. Das bestätigt die Ergebnisse von Best, Jessie und Ridout[40], die den physiologischen Fettgehalt der Leber um $\frac{1}{3}$ senken konnten. Neben der Verfettung bilden sich auch die Nekrosen schnell zurück, ohne daß hier ein Einfluß der lipotropen Substanzen nachweisbar wäre. Das spricht für die oft beobachtete gute Regenerationsfähigkeit der Leber. Ein kurzdauernder einmaliger auch noch so ausgedehnter Zelluntergang in der Leber braucht noch nicht von einem bindegewebigen Ersatz des zugrundegegangenen Bereiches gefolgt zu sein, sondern zunächst müssen Regenerationsvorgänge im Vordergrund stehen. Wahrscheinlich ist es erst der *dauernde* Zelluntergang und der *chronische* Reiz auf das Gefäßbindegewebe, der die zirrhotischen Veränderungen herbeiführt.

Was die Nekrose herbeiführt, ist noch weitgehend unbekannt. Eine gewisse Rolle ist Fermentsystemen mit der SH-Gruppe, für deren Aufbau Cystein und Methionin notwendig sind, sowie dem Tokopherol, welches in diesem Fermentsystem eine Rolle spielen soll, zugeschrieben worden (Himsworth).

Bezüglich des Verhältnisses Neutralfett der Leber: cholinhaltige Phosphatide des Blutplasmas haben sich unsere Vorstellungen allem

Anschein nach als richtig erwiesen. Da Leberfettanalysen bisher nur in Einzelfällen gemacht wurden, können wir quantitativ über diese Beziehungen noch nichts aussagen. Ein Vergleich des histologisch sichtbaren Grades der Leberverfettung mit dem zum gleichen Zeitpunkt bestimmten Lezithin- und Sphingomyelingehalt des Blutes deutet jedoch grob dieses Verhältnis an. Die Parallelität geht jedenfalls soweit, daß es berechtigt erscheint, den Plasmaspiegel an cholinhaltigen Phosphatiden als Maß für die Schwere der Fettumbaustörung und Neutralfettablagerung in der Leberzelle zu verwenden. Gemäß der in der Einleitung ausgeführten Theorie bedeutet ein niedriger Gehalt des Plasmas an Lezithin und Sphingomyelin eine starke Neutralfettablagerung in der Leber.

Daher macht sich im Verhalten der Plasmaphosphatide die lipotrope Wirkung ebenfalls bemerkbar.

Zusammenfassung.

An 28 Hunden wurde eine Leberverfettung durch orale Gaben von Tetrachlorkohlenstoff erzeugt. Der nach histologischen Befunden beurteilte Grad der Leberverfettung geht mit einem Absinken der cholinhaltigen Plasmaphosphatide Lezithin und Sphingomyelin einher. Nach Aufhören der Tetrachlorkohlenstoffwirkung verschwindet die Leberverfettung, die Plasmaphosphatide steigen wieder an. Durch die lipotropen Substanzen Cholin oder Methionin kann die Verfettung nicht verhindert werden. Jedoch wird der Abtransport des Neutralfettes aus der Leber und die Erhöhung der Plasmaphosphatide nach Aufhören der Giftwirkung durch diese Substanzen beschleunigt.

Histologische Befunde zu Tab. 1 und 2.

Prot. Nr. 1. Dissoziation der Leberbälkchen, ausgedehnte periphere Nekrosen Zellinfiltrationen, in den Nekrosen feintropfige, am Rande stark großtropfige Verfettung.

Prot. Nr. 2. Zentrale und periphere Nekrosen mit feintropfiger, am Rande stärkster grobtropfiger Verfettung.

Prot. Nr. 3. Ausgedehnte zentrale Nekrosen mit wenigen streifenförmigen Parenchymresten. Dissoziierte Leberbälkchen, Zellinfiltrationen, restliche Leberzellen grob verfettet.

Prot. Nr. 4. Sämtliche Leberzellen beginnend nekrotisch mit unscharfer Zeichnung der Zellgrenzen, Dissoziation, feinst- bis grobtropfige Verfettung.

Prot. Nr. 5. $^2/_3$ des Lebergewebes zentral nekrotisch, starke Blutungen in der Peripherie, diffuse feinkörnige Verfettung in den Nekrosen fein bis mitteltropfige Verfettung im peripher erhaltenen Leberparenchym.

Prot. Nr. 6. Läppchenstruktur aufgehoben, Verquellung und Vakuolisierung der Leberzellen, Blutungen, keine Verfettung, auch nicht in den Gallengangsepithelien.

Prot. Nr. 7. Unscharfe Bälkchenzeichnung, zentrale und periphere Blutungen in Glissonschen Dreiecken, Spuren fein- bis mitteltropfigen Fettes, Gallengangsepithelien verfettet.

Prot. Nr. 8. $^4/_5$ durch Nekrosen und Blutungen zerstört. Zellinfiltrationen in den peripher erhaltenen Leberzellen. Keine Zeichen von Verfettung, auch nicht in den Gallengangsepithelien.

Prot. Nr. 9. $^2/_3$ der Leberläppchen nekrotisch, Blutungen. Dissoziation der erhaltenen Leberzellen mit mittel- bis grobtropfiger Verfettung.

Prot. Nr. 10. Bis auf Inseln von verquollenen und dissoziierten Leberbälkchen durch Nekrosen und Blutungen zerstört. Keine Verfettung, auch nicht in den Gallenkapillaren.

Prot. Nr. 11. Alle Leberzellen verquollen und vakuolisiert. Bälkchengrenzen verwaschen. Blutungen, Zellinfiltrationen. Fett nur in einzelnen Gallenkapillaren.

Prot. Nr. 12. Bälkchenstruktur gut erhalten. Leberzellen, etwas gequollen, keine Verfettung, auch nicht in den Gallenkapillaren.

Prot. Nr. 13. Leberzellen gequollen und vakuolisiert. Blutungen und reichlich Bindegewebswucherungen von den Glissonschen Dreiecken aus. Keine Verfettung, auch nicht in den Gallenkapillaren.

Prot. Nr. 14. Nekrosen im zentralen Drittel der Leberläppchen, Blutungen, geringe feintropfige Verfettung.

Prot. Nr. 15. $^2/_3$ des Lebergewebes verquollen und vakuolisiert. Inseln gesunder Leberzellen in der Peripherie, Blutungen und Zellinfiltrationen in den Glissonschen Dreiecken, keine Verfettung.

Prot. Nr. 16. $^1/_2$ nekrotisch, zellig infiltriert, reichlich Blutungen, mäßig fein- bis mitteltropfige Verfettung in den Randzonen.

Prot. Nr. 17. Ausgedehnte Nekrosen, Inseln dissoziierter Leberzellbälkchen, perivasale Leukozyteninfiltrationen, intensive grobtropfige Verfettung der erhaltenen Leberzellen.

Prot. Nr. 18. Auflösung der Läppchenzeichnung, Verquellung und Vakuolisierung der Leberzellen, Blutungen, mäßige grobtropfige Verfettung in den Randbezirken.

Prot. Nr. 19. Zentrale Nekrose, periphere Blutungen und Zellinfiltrationen. Fein- bis mitteltropfige Verfettung.

Prot. Nr. 20. Reste zentraler Nekrosen, Zellinfiltrationen, keine Verfettung.

Literatur.

[1] Fisher: Amer. J. Physiol. **67**, 634 (1924). — [2] Allan, Bowie, McLeod, u. Robinson: J. exper. Pathol. **5**, 75 (1924). — [3] Best u. Hershey: J. Physiol. **75**, 49 (1932). — [4] McKibbin, Thayer u. Stare: J. Labor. a. clin. Med. **29**, 1109 (1944). — [5] Abderhalden: Schweiz. med. Wschr. **1947**, 629. — [6] Juckes: Ann. Rev. of Biochem. **16**, 193 (1947). — [7] Entenmann, Chaikoff u. Friedländer: J. of biol. Chem. **158**, 231 (1945). — [8] Entenmann, Chaikoff u. Zilversmit: J. of biol. Chem. **166**, 15 (1946). — [9] De Witt Stetten: J. of biol. Chem. **140**, 143 (1931). — [10] Györyy u. Goldblatt: J. of exper. Med. **17**, 185 (1939). — [11] Blumberg u. Goady: Arch. exper. Pathol. u. Pharmakol. **34**, 1035 (1942). — [12] Best, Jessie u. Ridout: J. of Physiol. **97**, 489 (1940). — [13] Stetten u. Salcedo: J. Nutrit. **29**, 167 (1945). — [14] Schümmelfeder: Tag. Dtsch. Gesellsch. Pathol. Dortmund 1948. — [15] Bernhard: Kongreßber. Dtsch. Gesellsch. Inn. Med. **1950**. — [16] Zilversmit, Entenmann u. Chaikoff: J. of biol. Chem. **176**, 193 (1948). — [17] Lintzel u. Monasterio nach Hinsberg-Lang: Klin. Labor.-Chem. **1938**. — [18] Bollmann u. Mann: Erg. Physiol. **38**, 445 (1936). — [19] Kouvenaar: Trans. J. Congr. Assoc. trop. Med. Tokyo **1925**. — [20] Gardener: Bull. Hopkins Hosp. **36**, 107 (1925). — [21] Pessoa u. Meyer: Amer. J. trop. Med. **3**, 177 (1923). — [22] Curtius: Med. Beamt. **34**, 144 (1921). — [23] Maloff: Arch. exper. Pathol. u. Pharmakol. **134**, 168 (1928). — [24] Docherty u. Burges: Brit.

med. J. **1920**, 907. — [25] Koelsch: Zbl. Gewerbehyg. **4**, 69 (1916). — [26] Lambert: J. Amer. med. Assoc. **79**, 2055 (1922). — [27] Lamson: J. of Pharmacol. **22**, 215 (1923). — [28] Floret: Zbl. Gewerbehyg. N. F. **4**, 257 (1927). — [29] Perlmann u. Chaikoff: J. appl. Physics. **12**, 319 (1941). — [30] Singalt u. Eckstein: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **41**, 512 (1939). — [31] Dutra u. McKibbin: J. Labor. a. clin. Med. **30**, 301 (1945). — [32] Drill u. Loomis: J. of Pharmakol. u. exper. Ther. **90**, 138 (1947). — [33] Barret, Best, McLean u. Ridout: J. of Physiol. **97**, 103 (1939). — [34] Brunschwig, Johnson u. Nichols: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **60**, 388 (1945). — [35] György, Seiffer, Thomarelli u. Goldblatt: J. exper. Med. **83**, 449 (1946). — [36] Goodell, Hanson u. Hawkins: J. exper. Med. **79**, 625 (1944). — [37] Miller, Ross u. Whipple: Amer. J. med. Sci. **200**, 739 (1940). — [38] Heppel, Highman u. Porterfield: J. Pharm. u. Exper. Ther. **87**, 11 (1946). — [39] Benard, Gajdos-Torok u. Gajdos: Séanc. Soc. biol. Fil. **141**, 122 (1947). — [40] Best, Jessie u. Ridout: J. of Physiol. **97**, 489 (1940). — [41] Himsworth u. Glynn: Clin. Sci. **5**, 93 (1944).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 177—183 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. Weese).

Zur Problematik der Warburgschen Narkose-Theorie.

Von

Walter Rummel.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Juli 1950.)

Das Thema mag zunächst unberechtigt erscheinen, da die Seelichsche Narkosetheorie[1] bereits beansprucht, die Unzulänglichkeit der Warburgschen Anschauung[2] erwiesen und durch eine lückenlosere Erklärung ersetzt zu haben. Doch, da sie letztlich nur eine differenziertere Fortführung der Warburgschen Deutung des Phänomens Narkose ist und neuerdings sich auch in ihren Voraussetzungen als unzutreffend erweist (Tammelin u. Löfgren[3]), besteht die gewählte Formulierung wohl zu Recht. Zudem finden die Experimente, die eine Äußerung zu diesem Thema veranlaßten, auch durch die Seelichsche Version keine Erklärung.

Warburgs Narkosetheorie hatte von je besonderes Gewicht gegenüber den anderen — auch gegenüber der nachfolgenden Seelichschen —, da die experimentellen Untersuchungen, auf denen sie fußt, auch in ihren Modellversuchen in unmittelbarerer Beziehung zur Zelle stehen, im Gegensatz zu den allein von physikochemischen Modellen auf den Vorgang an der lebenden Substanz rückschließenden Theorien. Sie müssen naturgemäß immer Gefahr laufen, daß das für die erste unter ihnen, die Lipoidtheorie, von Weese u. Hahn[4] gebrauchte Wort gilt, daß sie „mehr eine Theorie der Narkotika, als eine Theorie der Narkose ist." Wie sehr auch heute ein derartiger Hinweis Berechtigung besitzt, dafür gibt die Arbeit von Tammelin u. Löfgren ein Beispiel, die in ihrem umfassenden Untertitel „Mechanismen of anaesthesia" deutlich den Anspruch einer allgemeingültigen Theorie nicht nur der Narkose, sondern auch gleichzeitig der Lokalanästhesie erhebt, und zwar auf Grund rein physikochemischer Studien, die in der Messung von Änderungen des Adsorptionsgleichgewichtes in einem Modellsystem nach Einspritzung verschiedener Anaesthetika bestehen. Eine Veränderung der Organisation der an die Zellmembran adsorbierten Lipoidschicht soll auch für die Lokalanästhesie verantwortlich sein. Dafür, daß der Wirkungsmechanismus der Lokalanaesthetika an Zellen schwerlich auf gleichen Vorgängen beruht, können wir nachher ein augenfälliges Experiment anführen. Diese Theorie und die von Seelich sind an Modellen gewonnen, bei denen die lipoide Phase eine entscheidende Rolle spielt, und ermöglichen deshalb zum Beispiel keine Vorstellung über die narkotische Wirkung auf kolloidales Platin (Meyerhof, zit. Clark[5]) und auf gelöste Fermenteiweiße. Darüber hinaus versagen sie erst recht an einem von Clark angeführten, ganz einfachen Modell, an dem sicherlich physikochemische Kategorien gelten. Wir denken an die Messungen von Rideal u. Wright (zit. Clark), die zeigen, daß Amylalkohol die Autoxydation von Tierkohle völlig zu hemmen vermag. An diesem einfachen Beispiel wird aber auch

bereits die WARBURGsche Theorie — nach der Meinung von CLARK — fragwürdig, denn die völlige Hemmung wird schon durch Amylalkoholmengen bewirkt, die nur ausreichen, um 0,38% der Oberfläche zu bedecken. Gleichviel, die Theorie WARBURGS, als Theorie der Fermentnarkose im engeren Sinn gefaßt, gab bisher die am meisten befriedigende Erklärung für die beobachteten Erscheinungen, und wenn nach SEELICH infolge einer Löslichkeitsänderung Enzyme aus der Grenzschicht abwandern, so führt diese Anschauung im Grunde nicht viel weiter als die Erklärung der Vorgänge „durch adsorptive Verdrängung", wie sie WARBURG gegeben hat.

Es wird nun versucht werden, unter Betrachtung einiger experimenteller Ergebnisse, die Problematik der WARBURGschen Narkose-Theorie und damit gleichzeitig der von SEELICH und TAMMELIN u. LÖFGREN aufzuzeigen, die sich praktisch anschließen. Unsere Befunde sind an roten Blutzellen gewonnen, dem gleichen Objekt, auf das sich großenteils WARBURGS Beobachtungen beziehen. Das erscheint uns besonders wichtig, weil damit von vornherein für die Betrachtung nicht die Gefahr auftaucht, die eine Übertragung von einem Modellsystem zum anderen oder gar von da auf einen lebenden kleinen oder großen Komplex mit sich bringt.

Diese Untersuchungen wurden durch Beobachtungen bei Permeabilitätsmessungen veranlaßt, die den Schluß auf energetische Zusammenhänge zwischen Zuckerstoffwechsel und Zellpermeabilität nahelegten. Die Tatsache, daß der Erythrozyt durch Zystein für längere Zeit vor der Lyse durch Urethan bewahrt werden kann, führte zu der spekulativen Äußerung, „daß ein ‚aktiviertes' Fermentsystem offensichtlich weniger leicht ‚narkotisiert' wird als ein unbeeinflußtes"[6]. Die Gegenüberstellung der beiden Bezeichnungen „aktiviertes" Fermentsystem und „narkotisiertes" Fermentsystem in dieser Interpunktion barg bereits die wechselseitige Frage: ist überhaupt das eine möglich, solange das andere mit Recht behauptet wird? Hierbei muß dann auch die Fragwürdigkeit einer Theorie der adsorptiven Verdrängung, bzw. der Abwanderung infolge Verschiebung des Adsorptionsgleichgewichtes deutlich in Erscheinung treten. Die im folgenden dargestellten Experimente sollen die Berechtigung einer derartigen Ausdrucksweise prüfen. Auf Ausführungen über die angewandten Meßmethoden wird verzichtet, da sie anderenorts eingesehen werden können[7].

Experimenteller Teil.

Das untersuchte System bestand aus Erythrozyten (vom Menschen), dem Aktivator Zystein-HCl, und dem Narkotikum Äthylurethan. Das p_H wurde mit isotonischem Phosphatpuffer um 7,4 gehalten. Als Kriterium zur Messung der Stoffwechselgröße wurde der O_2-Verbrauch gewählt, der manometrisch in der WARBURG-Apparatur ermittelt wurde. — Wir müssen die Eigenschaften des Systems kurz umreißen, um die vielleicht

zunächst naheliegende Analogie zu einer von Warburg in diesem Zusammenhang benützten Versuchsanordnung, Blutkohle, Zystein und Narkotika, aus dem Gesichtsfeld zu räumen. Im Warburgschen Versuchsansatz wird erstens Zyst*in* verwandt, das sich in unserem Fall effektlos erweist, und zweitens dient es als Substrat, das auch durch andere Aminosäuren ersetzbar ist. In unserem System dagegen nimmt das Zystein eine ganz andere Stellung ein. Es wirkt als Aktivator, und zwar nur solange es noch nicht völlig zu Zystin oxydiert ist. Diese Sonderstellung gegenüber anderen Aminosäuren wird an der Wirkungslosigkeit der ebenfalls schwefelhaltigen Aminosäure Methionin, die wir in Vergleich gesetzt haben, besonders deutlich. Den Angriffspunkt des Zysteins als Aktivator haben wir in Vorversuchen herausgearbeitet und können ihn ziemlich genau definieren[7]. Drei Gründe sprechen dafür, daß der Angriffspunkt das Warburg-Christiansche Fermentsystem (das Triphosphopyridinukleotid und sein zugehöriges Zwischenferment) ist: 1. Das Substrat, das nach Zerstörung der Struktur Voraussetzung für eine Wirkung des Zysteins ist, das Hexosemonophosphat; 2. die Unbeeinflußbarkeit durch Zyanid und 3. der positive Ausfall des Versuches am Fermentsystem selbst.

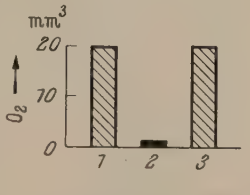


Abb. 1. O_2-Verbrauch in 3 Std: 1. Erythrozyten; 2. + 0,68 mol Äthylurethan; 3. + 0,68 mol Urethan + 0,0065 mol Zystein-HCl.

Dieser wichtige Befund wurde von Meldrum und Tarr[8] geliefert, wenn sie ihn auch als solchen nicht werteten, da das Ziel ihrer Untersuchungen war, nachzuweisen, daß das Warburg-Christiansche Fermentsystem wie Disulfidglutathion auch Zystin reduziert. Aus den der Abb. 2 ihrer Arbeit zu entnehmenden Werten läßt sich die für die Oxydation des Zystein zu Zystin maximal benötigte Sauerstoffmenge errechnen. Es tritt dann eine Oxydationssteigerung von mehreren 100% zu Tage, die in der Größenordnung der von uns in Erythrozytensuspensionen gemessenen entspricht.

Abb. 1 gibt den Grundversuch der Experimente wieder: Eine Äthylurethankonzentration von 0,68 mol hemmt den Sauerstoffverbrauch der Erythrozyten um 100%, bei gleichzeitigem Zusatz von 0,0065 mol Zystein-HCl (Endkonzentration) jedoch verbraucht die Suspension (nach Abzug der Oxydationsrate für die zugegebene Zysteinmenge) genau so viel Sauerstoff wie die Kontrolle. Dabei ist das Narkotikum keineswegs wirkungslos gemacht worden, etwa gar durch Zystein verdrängt. Denn diese Zysteinkonzentration allein würde den Sauerstoffverbrauch der Erythrozyten um 100% steigern. Die Urethankonzentration von 0,68 mol lähmt also diese durch Zystein aktivierte Oxydation so, daß gerade ein normaler Sauerstoffverbrauch übrigbleibt. *Bei entsprechender Dosierung interferiert also Aktivierung und narkotische Lähmung.*

Nun wurde einmal bei gleichbleibender Zystein-Konzentration (0,0065 mol) die Urethankonzentration variiert (von 0,34—0,68 mol)

und zum anderen bei gleicher Urethankonzentration (0,34 mol) die Zysteinkonzentration (von 0,00156—0,0065 mol). Abb. 2 u. 3 geben die gefundene Konzentrationsabhängigkeit wieder. In Abb. 3 wird mit 0,34 mol Urethan die Normalatmung um 48% gehemmt. Gegenüber Abb. 1, wo die praktisch totale Atemhemmung bei 0,68 mol Urethan von 0,0065 mol Zystein zur Norm zurückgeführt wird, genügen bei dieser niedrigen Narkotikumkonzentration 0,00156 mol Zystein beinahe zum Ausgleich; das ist eine Zysteinkonzentration, die größenordnungsmäßig den Bereich wirksamer Zyanidkonzentrationen erreicht. Die Hemmung der Normalatmung

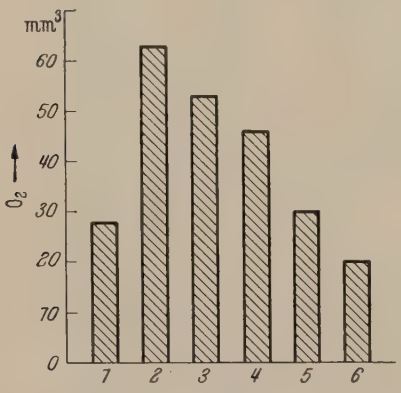


Abb. 2.

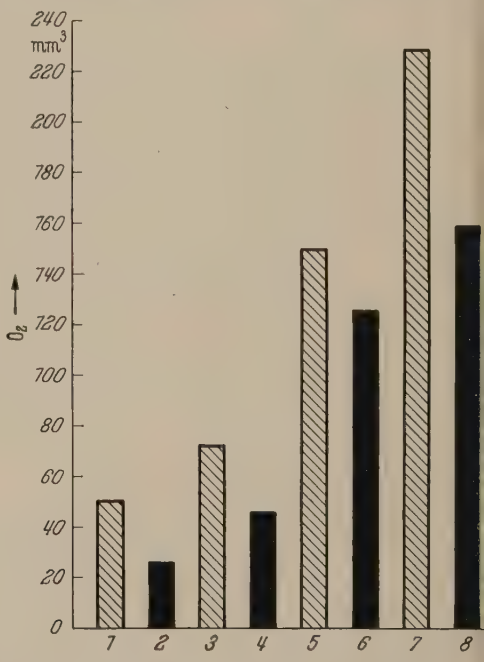


Abb. 3.

Abb. 2. O_2-Verbrauch in 7 Std: 1. Erythrozyten; 2. + 0,0065 mol Zystein-HCl; 3. + 0,0065 mol Zystein-HCl + 0,34 mol Äthylurethan; 4. + 0,0065 mol Z. + 0,45 mol Ä.; 5. + 0,0065 mol Z. + 0,56 mol Ä.; 6. + 0,0065 mol Z. + 0,68 mol Ä.

Abb. 3. O_2-Verbrauch in 12 Std: Schwarz jeweils mit 0,34 mol Äthylurethan; 1. u. 2. Erythrozyten ohne Zysteinzusatz; 3. u. 4. mit 0,00156 mol Zystein-HCl; 5. u. 6. mit 0,00325 mol Z.; 7. u. 8. mit 0,0065 mol Z.

durch die verschiedenen Urethankonzentrationen wurde nicht wiedergegeben, da 0,34 mol Urethan bereits um 70% hemmten und bei diesem geringen Sauerstoffverbrauch die Methode eine Abstufung im Bereich zwischen 70- und 100%iger Hemmung nicht mehr zuläßt. Das Ausmaß der narkotischen Hemmung bei verschiedenen Blutkörperchen-Suspensionen schwankt von Versuch zu Versuch beträchtlich zwischen 30 und 70% (vgl. auch WARBURG[2]).

Abb. 4 verschafft einen Überblick über den zeitlichen Ablauf des in Abb. 2 summarisch aufgezeichneten Versuches. Zur richtigen Beurteilung des Bildes müssen bei allen mit Zysteinzusatz gewonnenen

Kurven jeweils 70 mm³ O_2 vom Endpunkt, wo alles Zystein zu Zystin oxydiert ist (negative Nitroprussidreaktion), in Abzug gebracht werden, eine Menge, die das hier verwandte Zystein zur Oxydation benötigt (sie liegt aus erklärlichen Gründen bei unserem Präparat etwas unter dem theoretisch zu erwartenden Werte von 83 mm³). Alle Kurven mit Urethanzusatz steigen steiler an. Die Oxydationsgeschwindigkeit scheint also gegenüber dem Ansatz mit Zystein allein zunächst stärker aktiviert zu sein. Doch vermag der Extremfall bei 0,68 mol Urethan Aufschluß über diese zunächst verblüffende Beobachtung zu geben. Hier zeigt sich nach Abzug der O_2-Quote für Zystein, daß keine Aktivierung der Atmung über die Norm stattgefunden hat. Wenn man die geringe Zellatmung abzieht, die hier 70% der Kontrolle beträgt und allerdings bei der hohen Urethankonzentration überhaupt nur auf Grund einer Aktivierung durch Zystein möglich ist, so gibt die Kurve praktisch lediglich die Oxydation des Zysteins wieder. Das verdeutlicht aber andererseits, daß in dem Ansatz mit Zystein allein, wo die stärkste Wirkung gemessen wird, im Rahmen der Stoffwechselprozesse immer wieder ein Anteil des entstandenen Zystins reduziert wird. So könnte man die geringere Oxydationsgeschwindigkeit trotz der im Endeffekt stärkeren Atmungssteigerung erklären.

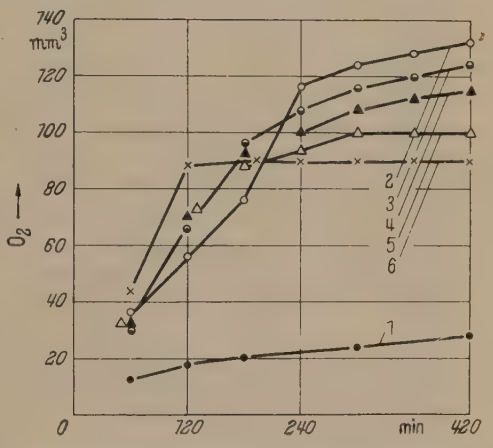


Abb. 4. 1. Erythrozyten; 2. + 0,0065 mol Zystein-HCl; 3. + 0,0065 mol Z. + 0,34 mol Äthylurethan; 4. + 0,0065 mol Z. + 0,45 mol Ä.; 5. + 0,0065 mol Z. + 0,56 mol Ä.; 6. + 0,0065 mol Z. + 0,68 mol Ä.

Diskussion.

Die geschilderten Experimente demonstrieren die Effekte gleichzeitiger Einwirkung eines Narkotikums und eines Aktivators in ihrer quantitativen und zeitlichen Abhängigkeit. Als wesentlicher Tatbestand ergibt sich daraus, daß trotz Gegenwart einer Narkotikumkonzentration, die allein zu einer totalen Hemmung der Atmung führt, bei entsprechender Dosierung des Aktivators das Ausmaß der Normalatmung erhalten bleiben kann. Angesichts dieser Befunde lassen die Warburgsche Theorie und die beiden anderen Modifikationen gleichermaßen im Stich. Sie können keine Vorstellung über die gegenseitige Beeinflussung von Aktivator und Narkotikum geben. Gemäß der Anschauungsweise der

WARBURGschen Theorie liegt hier eine Situation vor, bei der trotz gleicher Besetzung aktiver Oberflächen (gleicher Narkotikumkonzentration) die Oxydationen völlig gelähmt sind, bei Gegenwart des Aktivators aber das Ausmaß der Norm erreicht wird. Konsequenterweise müßte dann der Aktivator durch Verdrängung des Narkotikums wirken, was bei dem 100fachen Konzentrationsunterschied wohl außer Diskussion steht. Oder nach der SEELICHschen Theorie müßte man sagen, daß trotz gleicher Narkotikumkonzentration im Falle gleichzeitiger Anwesenheit von Zystein die Abwanderung der Enzyme aus der Membran nicht dasselbe Ausmaß annimmt. Wir haben dabei zunächst außer acht gelassen, daß, wie eingangs erwähnt, die SEELICHsche Theorie nach einem Zitat von TAMMELIN u. LÖFGREN auf Grund neuerer Untersuchungen hinfällig sei, da die angenommene membranabdichtende Wirkung narkotischer Konzentrationen an der Zelle nicht zutreffe. In Untersuchungen, die THIELKE[9] durchführte, ergab sich auf Grund von Kaliummessungen, z. B. bei einer Urethankonzentration von 3% (0,34 mol), nur ein erhöhter Kaliumaustritt und nie der Effekt einer Abdichtung. Und wenn die Narkotikumkonzentration nicht zur Beschleunigung des Kaliumaustrittes ausreichte, so verhinderte sie, wie z. B. in einem Fall (bei einer Urethankonzentration von nur 1,85%), den aktiven Kaliumtransport ins Zellinnere. Das darf dann natürlich nicht als Abdichtung der Membran im SEELICHschen Sinne aufgefaßt werden.

Der Theorie von TAMMELIN u. LÖFGREN selbst wollen wir noch die Experimente von FLECKENSTEIN u. HARDT[10] entgegenstellen. Es handelt sich um einen neuen Versuch, vom Modell her Narkose und Lokalanästhesie auf den gleichen Mechanismus zurückzuführen. Die FLECKENSTEINschen Befunde dagegen demonstrieren gerade in bezug auf die Zellpermeabilität einen direkten Antagonismus z. B. von Chloroform oder Avertin und Novocain. Danach hat die Annahme einer gleichen Wirkweise beider wenig Wahrscheinlichkeit für sich.

Da hier immer wieder auf die Fragwürdigkeit der Theorien hingewiesen wurde, die unvermittelt den Sprung vom physikochemischen Modell allein schon zur Einzelzelle oder gar noch weiter zu einem Gesamtorganismus wagen, so könnte möglicherweise der Anschein entstanden sein, als sollte von einer physikochemischen Anschauungsweise Abstand genommen werden. In der Betrachtung der elementaren Geschehnisse, die dem Phänomen, das wir Narkose nennen, zugrunde liegen, steht der physikochemische Aspekt zweifellos im Vordergrund. Dies ist auch hier sachgemäß der Fall; denn die gegenseitige Auswirkung von Aktivator und Narkotikum, wie sie beobachtet wurde, verlangt ebenfalls eine physikochemische Betrachtung. Eine chemische Anschauungsweise, z. B. unter dem Gesichtspunkt „Katalyse und Antikatalyse" — um den Unterschied zu verdeutlichen — läßt das Objekt nicht zu. Da die Bezugnahme

auf Oberflächenwirkungen bei der Erklärung der beobachteten Gegebenheiten versagt, müssen andere Faktoren noch unmittelbarer wirksam sein.

Ein Versuch, die vorliegenden Experimente zu deuten, führte zu folgendem Gedankengang, wobei wir uns bewußt auf diesen Fall der Wechselwirkung zwischen einem Narkotikum und einem Aktivator am Stoffwechsel der Einzelzelle beschränken: die Bremsung der Oxydationsprozesse in der Zellmembran erfolgt möglicherweise durch eine Änderung des Dielektrikums. Dielektrische Eigenschaften des Narkotikums stünden dabei also im Vordergrund. Die Voraussetzung, um am Wirkort die entscheidende Konzentration zu erreichen, bringen sie in ihren Oberflächeneigenschaften mit. Wenn sie sich nun kraft dieser Fähigkeiten zwischen die Redoxkette des an der Membran aufgereihten Fermentsystems lagern, so führt dieses gleichsam zähflüssigere Medium zu einer Verlangsamung des „Elektronenstromes" (Hydrierungs- und Dehydrierungsprozesse können ja ohne weiteres als Folge eines Durchreichens von Elektronen angesehen werden. Michaelis[11]). Auf diese Weise würde dann auch verständlich, daß ein Aktivator, hier das Redoxsystem Zystein-Zystin, gleichsam das Gefälle künstlich erhöht, und dadurch, trotz einer gegenüber der Kontrolle gleichen Narkotikumkonzentration den Sauerstoffverbrauch beschleunigt.

Jedenfalls erscheint die Anschauung, daß das Dielektrikum und seine Beeinflussung bei der Narkose eine wichtige Rolle spielt, sehr verlockend angesichts der Tatsache, daß die nervösen Strukturen mit ihrer sehr hohen DEK (Keller[12]) aus den übrigen Körperorganen herausragen und damit gegenüber einer Senkung besonders empfindlich sein dürften. Ob eine derartige Vorstellung der Wirklichkeit gerecht wird, muß vorerst noch dahingestellt bleiben.

Zusammenfassung.

Am Sauerstoffverbrauch von Erythrozyten wird die Konzentrationsabhängigkeit der gegenseitigen Beeinflussung von Urethan und Zystein gezeigt und daran anknüpfend bei der Stellungnahme zum Narkoseproblem die mögliche Bedeutung des Dielektrikums und seiner Veränderung erwogen.

Literatur.

[1] Seelich, F.: Erg. Physiol. **44**, 425 (1941). — [2] Warburg, O.: Über die katalyt. Wirk. der leb. Subst. Berlin: Springer 1928. — Schwermetalle als Wirkgr. von Ferm. Berlin: Saenger 1946. — [3] Tammelin, L. E., u. N. Löfgren: Acta. Chem. Scand. **1**, 891 (1947). — [4] Weese, H., u. F. Hahn: Natfrsch. und Med. in Deutschland **62** II, 1 (1939—1946). — [5] Clark, A. J.: Heffter Handb. exp. Pharm. Erg. Wk. 4. — [6] Rummel, W.: Arch. internat. Pharmakodynamie (Belg.) **78**, 268 (1949). — [7] Bruns, F., u. W. Rummel: Biochem. Z. **321**, 197 u. 236 (1950). — [8] Meldrum, N. U., u. H. L. A. Tarr: Biochemic. J. (Brit.) **29**, 108 (1935). — [9] Thielke, A.: Dissertation Düsseldorf 1949. — [10] Fleckenstein, A., u. A. Hardt: Klin. Wschr. **27**, 360 (1949). — [11] Michaelis, L.: Oxydations-Reduktionspotentiale. Berlin: Springer 1933. — [12] Keller, R.: Erg. Physiol. **30**, 294 (1930).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 184—188 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Weitere Untersuchungen über dehydrasenhemmende Gifte mit Triphenyltetrazoliumchlorid.

Von
A. Fleckenstein und G. Berg.

(Eingegangen am 30. Juni 1950.)

Allylsenföl, Akrolein, Ester der Monohalogenessigsäuren, Monohalogenazetone, Monochlormethylphenylketon, Halogenzyane sind — ebenso wie viele weitere halogenierte Körper — hochaktive Dehydrasen-Gifte besonders für den Zitronensäurezyklus (Fleckenstein[1, 2]). Die wesentlichsten Folgen dieser Fermenthemmungen sind

a) eine Blockierung der Zellatmung, besonders studiert an Froschhaut[2] und Froschmuskulatur[3] sowie an Hefezellen[2, 4],

b) eine Entladung der elektrischen Membranpotentiale (Depolarisation) von Nerven-[2] und Muskelfasern[3],

c) — als unmittelbarer Effekt dieser Depolarisation — am sensiblen Nerven Schmerzauslösung[2], am Muskel Kontrakturen bzw. Hemmung der Erschlaffung[3].

Diese Zusammenhänge sind in vorausgegangenen Arbeiten näher analysiert worden. Der Nachweis der Dehydrasen-Hemmung wurde dabei an Muskelbrei von Ratten und Fröschen mit der Methylenblau-Methode nach Thunberg geführt. Neue Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) nach Kuhn u. Mitarb.[5] als Wasserstoffakzeptor wesentliche Vorteile gegenüber Methylenblau bietet und nach unseren Beobachtungen mit Bienengift[6] unter Umständen ein bedeutend feineres Reagens auf Dehydrasen-Hemmung darstellt (vgl. auch die Untersuchungen von Doerr u. Mitarb.[7]). Es wurde daher auch mit TTC geprüft

a) in welchen Verdünnungen die aufgeführten Gifte noch Dehydrasen-Hemmung verursachen,

b) ob die mit TTC erfaßbaren dehydrasen-hemmenden Grenz-Konzentrationen etwa mit den Grenz-Konzentrationen übereinstimmen, welche die Zellatmung hemmen, oder die Muskelerschlaffung nach Kalium-Kontrakturen verzögern, oder bei intrakutaner Injektion am Menschen Schmerz erzeugen.

Experimenteller Teil.

Methode: Die Zubereitung der Muskelpräparate (Esculenten-Muskulatur) erfolgte in der von uns schon früher angegebenen Weise[6]. Anschließend wurden 4 g Muskelbrei jeweils in 100 cm³ Phosphat-Pufferlösung (1 Teil 0,2 mol prim. Natrium-Phosphat

+ 2 Teile 0,2 mol sec. Natrium-Phosphat) bei Zimmer-Temperatur suspendiert. Dem Parallelansatz wurden jeweils die Dehydrasengifte in der gewünschten Konzentration zugegeben. Nach 1 Std Einwirkungs-Dauer Abpressen der Flüssigkeit durch ein Leinentuch*. Jeweils 1 g Muskel-Bestandteile + 3 cm³ Pufferlösung + 1 cm³ 0,2 mol des jeweiligen Substrats (Milchsäure, Brenztraubensäure, Zitronensäure, Bernsteinsäure als Na-Salze) + 1 cm³ TTC-Lösung 1 : 200 in Phosphat-Puffer werden in ein luftdicht verschließbares Röhrchen gebracht. Die

Tabelle 1. *Dehydrasen-Hemmung*
(Hemmung der Triphenylformazan-Bildung in %).

Substrate	1:2000	1:4000	1:10000	1:20000	1:50000	1:100000	1:200000	1:400000	1:800000
1. durch Akrolein									
Brenztraubensäure	87	85	80	73	74	63	45	26	0
Milchsäure	89	89	81	80	70	43	19	3	0
Zitronensäure. . .	89	82	77	75	42	42	22	16	0
Bernsteinsäure . .	71	68	67	48	38	16	0	0	0
2. durch Allylsenföl									
Brenztraubensäure	90	90	72	69	71	42	16	6	0
Milchsäure	82	73	72	69	41	30	0	0	0
Zitronensäure. . .	83	76	79	72	36	18	0	0	0
Bernsteinsäure . .	54	33	20	12	0	0	0	0	0
3. durch Bromzyan									
Brenztraubensäure	98	98	92	91	91	27	4	4	0
Milchsäure	95	89	93	57	59	42	22	4	0
Zitronensäure. . .	98	96	98	98	77	40	28	7	0
Bernsteinsäure . .	97	70	76	71	42	33	8	0	0
4. durch Monobromazeton									
Brenztraubensäure	97	97	97	97	70	59	27	0	0
Milchsäure	91	89	85	67	64	58	5	5	0
Zitronensäure. . .	92	88	88	81	71	44	36	25	0
Bernsteinsäure . .	100	100	93	92	57	38	14	0	0
5. durch Monochlormethylphenylketon									
Brenztraubensäure	—	—	96	92	92	48	32	0	0
Milchsäure	—	—	82	82	52	38	13	0	0
Zitronensäure. . .	—	—	88	88	67	58	53	11	0
Bernsteinsäure . .	—	—	69	59	55	39	26	0	0
6. durch Monobromessigsäureäthylester									
Brenztraubensäure	100	100	88	88	92	52	45	28	0
Milchsäure	100	100	100	100	64	39	17	6	0
Zitronensäure. . .	100	100	96	100	96	62	39	24	3
Bernsteinsäure . .	100	93	87	80	20	0	0	0	0

* Nur bei der Prüfung von Monobromessigsäureäthylester wurden die vergifteten Ansätze und die Kontrollen 1 Std in *saurem* Phosphat (0,2 mol prim. Natrium-Phosphat) suspendiert, da in der gewöhnlichen Phosphat-Pufferlösung eine zu schnelle Spaltung des Esters[2] eintreten würde. Die anschließende Bestimmung der Dehydrasen-Aktivität erfolgte dann jedoch in gewöhnlicher Phosphat-Pufferösung ohne Giftzusatz.

vergifteten Ansätze enthalten auch in diesen Röhrchen die gleichen Gift-Konzentrationen, wie während der 1stündigen Vorbehandlung. Nach Absättigung mit Stickstoff bzw. Leuchtgas werden die Röhrchen für 1—2½ Std in ein Wasserbad von 30° gebracht, bis in den giftfreien Kontrollen eine stärkere Rotfärbung durch das — bei der Reduktion von TTC — gebildete Triphenylformazan eingetreten war. Die Bestimmung des Triphenylformazans erfolgte wie bisher[6] mit dem Stufenphotometer nach Ausschütteln mit Methylalkohol.

Auffällig war, daß Muskulatur von Temporarien in Vergleichsversuchen eine stärkere Dehydrasen-Aktivität als Eskulentenmuskulatur aufwies.

Ergebnisse.

In Tab. 1 sind die prozentualen Hemmungen der Dehydrierung von Brenztraubensäure, Milchsäure, Zitronensäure und Bernsteinsäure im Muskelbrei bei Einwirkung der einzelnen Dehydrasen-Gifte zusammengestellt (jeweils Mittelwerte aus 3 verschiedenen Ansätzen). Ebenso wie in den früheren Untersuchungen[2] mit Methylenblau treten wieder außerordentlich starke Effekte zutage. Während jedoch die Thunberg-Methode nur im Falle von Bromzyan Dehydrierungs-Hemmungen in einer Giftverdünnung über 1 : 100000 sicher erkennen ließ, sind mit Hilfe von TTC noch in weit geringeren Konzentrationen Dehydrasen-Schädigungen nachweisbar. Besonders wesentlich ist, daß die mit TTC gesicherten, Dehydrasen-hemmenden Grenz-Konzentrationen nunmehr in den meisten Fällen die Gift-Konzentrationen erreichen, manchmal auch zu übertreffen scheinen, die

a) die Atmung von Froschhaut[2] und Froschmuskulatur[3] beeinträchtigen,

b) die Erschlaffung des M.rectus nach Kalium-Kontrakturen[3] hemmen,

c) bei intrakutaner Injektion am Menschen deutlichen Schmerz[2] erzeugen (vgl. Tab. 2).

Tabelle 2.

	Grenzverdünnung für					
	Acrolein	Allylsenföl	Bromzyan	Monobrom-azeton	Monochlor-methyl-phenylketon	Monobrom-essigsäure-äthylester
Atmungshemmung am Muskel	100 000	50 000	300 000	400 000	200 000	300 000
Erschlaffungs-Verzögerung	200 000	100 000	400 000	400 000	400 000	400 000
Atmungshemmung an der Froschhaut	200 000	200 000	200 000	300 000	200 000	400 000
Schmerzerregung	300 000	300 000	200 000 —300 000	4 000 000	4 000 000	200 000 —400 000

Die Grenzkonzentrationen für a), b) und c) sind den früheren Veröffentlichungen entnommen.

Lediglich Monobromazeton und Monochlormethylphenylketon haben Schmerz-Effekte bei Menschen noch in Konzentrationen, die im Muskelbrei von Fröschen nicht mehr nachweisbar Dehydrasen-hemmend wirken (bis Konzentration 1 : 4 Millionen!); von dieser Konzentration an beginnen die Atmungshemmungen bei Bäckerhefe.

Vergleichsversuche mit Monobromazetat ergaben, daß in Konzentration 1 : 100000 keine Hemmung des Abbaues von Zitronensäure, Brenztraubensäure und Milchsäure mehr eintritt, Konzentration von 1 : 50000 ist noch deutlich wirksam. Die Bernsteinsäuredehydrase wurde schon durch Konzentration 1 : 4000 nur noch schwach geschädigt. Das Fehlen von Schmerz-Effekten bei intrakutaner Injektion von Monobromessigsäure als Na-Salz (Konzentration 1 : 1000) dürfte — neben anderen schon früher diskutierten Ursachen[2] — vor allem auf eine auffällig geringe Giftwirkung gegenüber dem Nerven zurückzuführen sein: Im Gegensatz zu den schmerzerregenden Dehydrasen-Giften, die die Leitfähigkeit des N.ischiadicus vom Frosch durch Depolarisation rasch aufheben[2, 8, 9], schädigt Monobromazetat — selbst bei stundenlanger Einwirkung von Konzentration 1 : 5000 — die Leitfähigkeit unter Umständen überhaupt nicht. Die gut lipoid-löslichen, nicht ionisierten Dehydrasen-Gifte mit Schmerz-Effekt scheinen demnach weit größere Affinitäten zur Nerven-Substanz aufzuweisen als die Monobromazetat-Anionen.

Besprechung.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die toxischen Wirkungen der untersuchten Gifte mit guter Berechtigung auf eine primäre Störung des oxydativen Stoffwechsels in seinem wasserstoff-aktivierenden Anteil bezogen werden können: *Die mit TTC gesicherten Hemmungen im Abbau von Milchsäure, Brenztraubensäure, Zitronensäure und Bernsteinsäure sind in den meisten Fällen hinreichend stark, um die Atmungshemmung an Froschhaut und Froschmuskulatur, die Schmerzwirkung am Nerven und die Erschlaffungs-Verzögerung am Muskel als Folge dieser primären Fermenthemmung zu erklären; dasselbe gilt für die Entzündungs-Wirkung im Gewebe.* Wenn auch schon bisher Oxydationshemmungen bis in hohe Giftverdünnungen — ebenso wie die prinzipiellen Angriffspunkte an den Dehydrasen — gesichert waren, so erbringen doch erst die vorliegenden Untersuchungen einen direkten Nachweis der Dehydrasen-Blockierung in diesen schwachen Konzentrations-Bereichen. Das von Kuhn u. Mitarb.[5] eingeführte Triphenyltetrazoliumchlorid ist bei anaerober Versuchsanordnung — abgesehen von sonstigen Vorteilen — geeignet, Dehydrasen-Hemmungen empfindlicher wiederzugeben als Methylenblau.

Zusammenfassung.

1. Allylsenföl, Akrolein, Monobromessigsäureäthylester, Monobromazeton, Monochlormethylphenylketon, Bromzyan hemmen die Dehydrierung von Brenztraubensäure, Milchsäure, Zitronensäure bzw. Bernsteinsäure im Froschmuskel-Brei noch in Verdünnung 1 : 100000 bis 1 : 400000.

Für den Nachweis dieser Dehydrasen-Schädigung ist Triphenyltetrazoliumchlorid bei anaerober Versuchsanordnung ein empfindlicherer Indikator als Methylenblau.

2. Die Atmungshemmung an Froschhaut und Froschmuskulatur sowie die Erschlaffungsverzögerung am M.rectus nach Kalium-Kontrakturen treten als Folge dieser Dehydrasen-Schädigung im gleichen Konzentrationsbereich ein. Auch die Schmerzwirkung bei intrakutaner Injektion zeigt bei Akrolein, Allylsenföl, Bromzyan, Monobromessigsäureäthylester Übereinstimmung mit den Dehydrasen-hemmenden Konzentrationen. Nur Monobromazeton und Monochlormethylphenylketon verursachen Schmerz noch in höheren Verdünnungen.

Literatur.

[1] Fleckenstein, A.: Sitzungsber. physik.-med. Ges. Würzburg 1944 vgl. Naturforsch. u. Medizin in Deutschl. 1939—1946, Bd. 63 Pharmakologie u. Toxikologie, Teil III, S. 147. — [2] Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung. Frankfurt: Verlag Dr. Dietrich Steinkopff 1949. — [3] Fleckenstein, A., W. Brose, H. J. Canis, u. A. Förderer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 235 (1950). — [4] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 151 (1944); **205**, 21 (1948). — [5] Kuhn, R., u. D. Jerchel: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **74**, 941, 949 (1941). — Jerchel, D., u. W. Möhle: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **77**, 591 (1944). — [6] Fleckenstein, A., H. Tippelt, u. H. Kroner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 380 (1950). — [7] Doerr, W., u. E. v. Lüttichau: Klin. Wschr. **27**, 754 (1949). — [8] Fleckenstein, A.: Klin. Wschr. **28**, 452 (1950); 17. Tagung Dtsch. Pharmakol. Ges. Nauheim, 13. April 1950. — [9] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharm. (im Druck).

Dozent Dr. A. Fleckenstein, Heidelberg,
Pharmakol. Institut der Universität, Hauptstr. 47/51.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 189—194 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Über die tyraminhemmende Wirkung der Antihistaminica.

Von

Rudolf Buchholz, Fritz Hahn und Dietrich Plester.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Juli 1950.)

Die Spezifität der Antihistaminica (A. H.), gemessen an ihrer antagonistischen Wirkung auf den Histamin-, Azetylcholin- und Bariumspasmus des Meerschweinchendarmes, ist sehr hoch. Überraschend aber

Abb. 1. Rinderkarotis in Tyrodelösung, Belastung 20 g, Temperatur 37,1°. Wirkung von Synopen auf Adrenalin, Tyramin und Histamin. Zeichenerklärung: A = Adrenalin $1{,}25 \cdot 10^{-6}$; T = Tyramin $2{,}5 \cdot 10^{-5}$; H = Histamin $5 \cdot 10^{-6}$; S_1 = Synopen $3{,}75 \cdot 10^{-7}$; S_2 = Synopen $6{,}25 \cdot 10^{-7}$; S_3 = Synopen $5 \cdot 10^{-6}$; S_4 = Synopen $1{,}25 \cdot 10^{-5}$. Nach jeder Gabe von Adrenalin, Tyramin oder Histamin wurde gründlich gespült.

dürfte der kürzlich von Meier und Bucher[1] mitgeteilte Befund erscheinen, daß das Antistin auf Tyramin und Cadaverin am Meerschweinchendarm genau so stark einwirkt wie auf Histamin. Sie glauben, daß zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Antihistaminica derartige Antagonismen unter Umständen zu berücksichtigen seien. Es schien uns nun die Möglichkeit gegeben, wenigstens dem mit Tyramin erhaltenen Befund eine tiefere Bedeutung zugrunde zu legen, da Burn und Tainter[2] darauf hingewiesen haben, daß das Tyramin in einigen pharmakologischen Eigenschaften (besonders an den Gefäßen) dem Histamin gleicht und im übrigen eine Zwischenstellung zwischen Histamin und Adrenalin einnimmt. Da den A. H. auch adrenolytische Wirkungen zukommen,

konnte vermutet werden, daß vielleicht Beziehungen zwischen histamin-, tyramin- und adrenalinhemmenden Eigenschaften bestünden. Um alle 3 Eigenschaften der A. H. nebeneinander zu messen, war das geeignetste Präparat der isolierte Gefäßstreifen (Rinderkarotis).

An diesem haben wir durch Auswertung 6 verschiedener A. H. feststellen können, *daß diese A. H. auf Tyramin stets schwächer als auf Histamin, aber stärker als auf Adrenalin antagonistisch einwirken.*

Diese Zwischenstellung des Tyramins ist in Abb. 1 am Beispiel des Synopens festgehalten. Die Konzentrationen von Adrenalin, Tyramin und Histamin waren absichtlich so gewählt, daß das Adrenalin am schwächsten und das Histamin am stärksten den Gefäßstreifen kontrahierten. Man erkennt, daß die ursprünglich schwächere Tyraminwirkung auch nach völliger Auslöschung der Histaminkontraktur nur wenig geschwächt bestehen bleibt. Bei weiterer Steigerung der Synopenkonzentration gelingt es, die Tyraminwirkung zum Verschwinden zu bringen, noch ehe die ursprünglich schwächste Adrenalinwirkung angetastet wird.

Abb. 2. Rinderkarotis. — Wirkung von Synopen auf Histamin, Tyramin und Adrenalin. Zeichenerklärung: H = Histamin $3{,}75 \cdot 10^{-6}$; T = Tyramin $2{,}5 \cdot 10^{-5}$; A = Adrenalin $1{,}25 \cdot 10^{-6}$; S_1 = Synopen $3{,}75 \cdot 10^{-5}$; S_2 = Synopen $3{,}75 \cdot 10^{-7}$; S_3 = Synopen $1{,}25 \cdot 10^{-5}$. Nach jeder Gabe von Histamin, Tyramin oder Adrenalin wurde gründlich gespült.

Zur Bestimmung des Verhältnisses der histamin-, adrenalin- und tyraminhemmenden Wirkungen der einzelnen A. H. wurden die Konzentrationen bestimmt, die äquieffektive Dosen von Histamin, Tyramin und Adrenalin um die Hälfte schwächten. Wenn diese Konzentrationen festlagen, wurden sie noch einmal an ein und demselben Gefäßstreifen einander gegenüber gestellt, so daß Kurven wie die in Abb. 2 erhalten wurden.

Die A. H. wurden 15 min vor der Zugabe der Amine dem Gefäßstreifen zugesetzt, was sich als notwendig erwies, um optimale Hemmungseffekte zu erhalten.

Die Tab. 1 enthält in der obersten Horizontalreihe die äquieffektiven Dosen der Amine, die nächstfolgenden Horizontalreihen geben die wirksamen Konzentrationen der geprüften Hemmstoffe (A. H. und Papaverin) an. Die darunter stehenden Zahlen drücken das Verhältnis der gegenüber den einzelnen Aminen wirksamen Konzentrationen der Hemmstoffe aus.

Man erkennt aus der Tabelle, daß auch das Antistin am Gefäßstreifen (im Gegensatz zum Meerschweinchendarm) auf Histamin stärker wirkt als auf Tyramin. Allerdings ist dieser Unterschied nur klein im Vergleich zu den anderen A. H. Im übrigen zeigt die Tabelle, daß die Abstände

zwischen histamin-, tyramin- und adrenalinhemmenden Konzentrationen bei den einzelnen A. H. charakteristisch verschieden sind.

Tabelle 1. *Wirkung von Antihistaminica und Papaverin auf Histamin, Tyramin Adrenalin, Noradrenalin und Sympatol an der Rinderkarotis; Grenz-Konzentrationen (vgl. Text).*

	Histamin $3{,}75 \times 10^{-5}$	Tyramin $2{,}5 \times 10^{-5}$	Adrenalin $1{,}25 \times 10^{-6}$	Noradrenalin $1{,}25 \times 10^{-6}$	Sympatol $3{,}75 \times 10^{-5}$
Antistin	$3{,}75 \times 10^{-7}$	$1{,}25 \times 10^{-6}$	$3{,}75 \times 10^{-5}$	$3{,}75 \times 10^{-5}$	—
	1	3,3	100	100	
Neo-antergan	$6{,}25 \times 10^{-8}$	$6{,}25 \times 10^{-6}$	$1{,}25 \times 10^{-5}$	$1{,}25 \times 10^{-5}$	—
	1	100	200	200	
Thephorin	$6{,}25 \times 10^{-8}$	$1{,}0 \times 10^{-6}$	$2{,}5 \times 10^{-5}$	$2{,}5 \times 10^{-5}$	—
	1	16	400	400	
Synopen	$3{,}75 \times 10^{-9}$	$3{,}75 \times 10^{-7}$	$1{,}25 \times 10^{-5}$	—	—
	1	100	3000		
Phener-gan	$3{,}75 \times 10^{-9}$	$3{,}75 \times 10^{-7}$	$1{,}25 \times 10^{-6}$	$1{,}25 \times 10^{-6}$	—
	1	100	330	330	
Pyribenz-amin	$6{,}25 \times 10^{-9}$	$2{,}5 \times 10^{-7}$	$3{,}75 \times 10^{-5}$	$3{,}75 \times 10^{-5}$	$3{,}75 \times 10^{-5}$
	1	40	6000	6000	6000
Papaverin	$2{,}5 \times 10^{-5}$	$1{,}25 \times 10^{-6}$	$2{,}5 \times 10^{-5}$	$2{,}5 \times 10^{-5}$	$2{,}5 \times 10^{-5}$
	20	1	20	20	20

In der Tabelle sind auch Noradrenalin und Sympatol mit aufgenommen, weil sie konstitutionschemisch zwischen Tyramin und Adrenalin stehen. Aber in ihrer Hemmbarkeit durch A. H. unterscheiden sie sich nicht deutlich vom Adrenalin, wenn auch das Noradrenalin manchmal ein bißchen stärker gehemmt wurde.

Aufschlußreich für den Antagonismus der A. H. auf Tyramin wurden Versuche mit Papaverin. Dieses hemmt durch den Mangel an histaminspezifischer Wirksamkeit das Histamin nur so stark wie das Adrenalin, Noradrenalin und Sympatol. Dagegen wird Tyramin stärker gehemmt.

Ähnlich wie Papaverin verhalten sich auch Cardiazol und Coramin, zwei Substanzen, die nach Hahn und Simon[4] am Gefäßstreifen gegenüber Adrenalin spasmolytisch wirksam sind. Die Histaminkontraktur wird genau so stark wie die Adrenalinkontraktur gehemmt, während wiederum Tyramin deutlich stärker antagonistisch beeinflußt wird.

Das Tyramin verhält sich also unter der Wirkung unspezifischer Spasmolytica dem Adrenalin und seinen Derivaten gegenüber im Prinzip ähnlich wie unter der Wirkung der A. H. Darum legten uns die Befunde die Annahme nahe, daß die *stärkere Wirkung der A. H. auf Tyramin nicht abhängig ist von der histaminolytischen Wirkung, sondern wie die Wirkung der A. H. auf Adrenalin nur der Ausdruck einer zweiten unspezifischen spasmolytischen Wirkungskomponente sei. Ihr gegenüber könnte das Tyramin besonders empfindlich sein.*

Versuche am Meerschweinchendarm führten zum gleichen Ergebnis (Tab. 2). Auch hier sind 2 A. H. gegenüber Histamin wirksamer als gegen-

Tabelle 2. *Wirkung von Antihistaminica, Papaverin* und *Atropin auf Histamin, Tyramin und Azetylcholin am Meerschweinchendarm; Grenz-Konzentrationen.*

	Histamin $1-7\times10^{-8}$	Tyramin $10^{-4}-5\times10^{-5}$	Azetylcholin $10^{-9}-5\times10^{-10}$
Antistin . . .	8×10^{-8}	8×10^{-8}	—
	1	1	
Synopen . .	10^{-8}	10^{-6}	—
	1	100	
Pyribenzamin	10^{-8}	10^{-6}	—
	1	100	
Neoantergan	10^{-9}	10^{-9}	—
	1	1	
Papaverin . .	10^{-5}	10^{-6}	10^{-5}—10^{-6}
	10	1	10—1
Atropin . . .	$>10^{-6}$	10^{-8}	10^{-9}
	<1000	10	1

über Tyramin. Beim Antistin und Neoantergan war jedoch ein Unterschied nicht sicher festzustellen (wie es auch Meier und Bucher[1]) für das Antistin angegeben haben). An Stelle des Adrenalins in den vorigen Versuchen muß hier noch das Azetylcholin berücksichtigt werden. Aus den Angaben der Literatur (vgl. zusammenfassende Tabelle bei Meier und Bucher[1]) ergibt sich, daß die azetylcholinhemmenden Konzentrationen der A. H. das 100- bis 1000fache der histaminhemmenden betragen. Da die A. H. aber auf Tyramin nur 1—100mal schwächer als auf Histamin wirken, ergibt sich, *daß am Meerschweinchendarm im Antagonismus gegenüber A. H. das Tyramin im ganzen eine Zwischenstellung zwischen Histamin und Azetylcholin einnimmt, so wie es am Gefäßstreifen zwischen Histamin und Adrenalin steht.*

Mit Papaverin erhielten wir am Meerschweinchendarm genau so wie am Gefäßstreifen eine stärkere Wirkung auf Tyramin als auf Histamin. Aber gegenüber Azetylcholin, das hier die Stelle des Adrenalins am Gefäßstreifen einnimmt, war kein oder nur ein unwesentlicher Unterschied vorhanden, so daß aus diesen Versuchen keine weiteren Schlußfolgerungen gezogen werden sollen.

Es wurde daher noch das Atropin geprüft. Dieses als sehr spezifisch angesehene Spasmolyticum wirkt nun überraschenderweise auf Tyramin so stark ein, daß der Unterschied zwischen der azetylcholin- und tyraminhemmenden Wirkung (eine Zehnerpotenz) als sehr gering bezeichnet werden muß, zumal wenn man den breiten Abstand zur histaminhemmenden Wirkung damit vergleicht. Die Analogie zu dem Verhalten

der Antihistaminica ist offenbar. In beiden Fällen liegt scheinbar ein Übergreifen der spezifischen Wirkungskomponente auf das Tyramin vor. Da dies aber offenbar unabhängig von der Art der spezifischen Wirkungskomponente der Fall ist, dürfte es sich in Wirklichkeit um etwas anderes handeln, *nämlich um den Ausdruck einer besonderen Empfindlichkeit des Tyramins gegenüber unspezifischen Einflüssen, welche auch die spezifischen Spasmolytica neben ihrer spezifischen Wirkungskomponente besitzen.*

Somit sind unsere Versuche auch für die Theorie der A. H. wertvoll, wenn auch anders als in dem ursprünglich erwarteten Sinn. *Sie haben erneut für den histaminantagonistischen Mechanismus das Vorliegen eines spezifischen Vorganges trotz des merkwürdigen Verhaltens des Tyramins erwiesen.*

Die hohe Spezifität der A. H. äußert sich auch darin, daß sie keinen Einfluß auf die Tyramintoxizität am Ganztier zu haben scheinen.

Die letalen Dosen von Tyramin beim Meerschweinchen betragen 5 g/kg subkutan. 4 Meerschweinchen gingen nach dieser Dosis nach 134, 275, 280 und 320 min ein. Wurden vorher 10 mg/kg Neoantergan subkutan verabreicht, so starben die Tiere nach 75, 155 und 330 min. Bei 3 anderen Tieren wurden von der Tyramininjektion an alle halbe Stunde 5 mg/kg Neoantergan subkutan gegeben. Sie starben nach 178, 208 und 223 min.

Es ist hierbei natürlich zu berücksichtigen, daß die Meerschweinchen nicht wie unter Histamin am Bronchospasmus sterben, sondern unter zerebralen Lähmungserscheinungen. Ein auffallender Befund sind Magenulzera, die gelegentlich perforieren. Wir fanden nachträglich in der Literatur, daß die ulkuserzeugende Wirkung des Tyramins schon 1944 von MERKEL[3] beschrieben worden ist. Sie wird von ihm auf Gefäßspasmen zurückgeführt. Wenn diese Vorstellung richtig ist, müßten A. H. nach unseren Befunden am Gefäßstreifen bei dem Tyraminulkus kurativ oder prophylaktisch wirksam sein.

4 Meerschweinchen wurden mit 5 mg/kg Tyramin und danach alle 30 min mit 2,5 mg/kg Tyramin behandelt. 3 von diesen Tieren erhielten 15 min vor Versuchsbeginn außerdem noch 10 mg/kg Antistin subkutan und 1½ Std später noch 5 mg/kg. 3 Std nach Beginn der Tyramininjektion wurden die Tiere getötet. Alle mit Antistin und Tyramin behandelten Tiere wiesen an der Magenschleimhaut oberflächliche bis markstückgroße Veränderungen auf, die den Charakter einer Andauung oder Verätzung hatten. 2 Tiere zeigten außerdem stecknadelkopfgroße ulzeröse Veränderungen. Das nicht mit Antistin vorbehandelte Tier war merkwürdigerweise frei von Veränderungen der Magenschleimhaut.

Diese Beobachtungen zeigen, daß das experimentelle Magenulkus noch Probleme birgt, die weiterer Beobachtung bedürfen.

Zusammenfassung.

1. Tyramin wird durch Antihistaminica an der Rinderkarotis schwächer als Histamin, aber stärker als Adrenalin gehemmt. Noradrenalin und Sympatol verhalten sich wie Adrenalin.

2. Am Meerschweinchendarm wirken Antistin und Neoantergan auf Tyramin genau so stark wie auf Histamin, Synopen und Pyribenzamin schwächer als auf Histamin hemmend. Im Vergleich zu Azetylcholin wird Tyramin stärker gehemmt.

3. Die Zwischenstellung des Tyramins zwischen Histamin und Adrenalin hinsichtlich der Beeinflußbarkeit durch A. H. wird durch die Papaverinwirkung aufgeklärt. Dieses wirkt auf Tyramin an der Karotis stärker als auf Histamin und Adrenalin. Gegenüber Atropin steht Tyramin am Meerschweinchendarm zwischen Azetylcholin und Histamin, und zwar näher an Azetylcholin.

4. Die Befunde beweisen, daß das Tyramin eine besondere Empfindlichkeit gegenüber den unspezifischen spasmolytischen Einflüssen besitzt, wie sie sowohl das Papaverin als auch die A. H. und Atropin (letztere neben ihrer spezifischen Wirkungskomponente) ausüben. Es besteht insbesondere kein Zusammenhang zwischen histaminolytischer und tyraminolytischer Wirkung der A. H.

Literatur.

[1] Meier, R., u. K. Bucher: Fortschritte der Allergielehre. Bd. 2, S. 290. Basel-New York: S. Karger 1949. — [2] Burn, J. H., u. M. L. Tainter: J. of Physiol (Br.) **71**, 169 (1931). — [3] Merkel, H.: Frankf. Z. Path. **58**, 285 (1944). — [4] Hahn, F., u. K. Simon: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 563 (1948).

Prof. Dr. Fritz Hahn,
Düsseldorf, Pharmakologisches Institut der Medizinischen Akademie.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 195—204 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Studien über Farbstoffpermeabilität am isoliert schlagenden Froschherzen.

Von
Wolfgang Oelssner.

(Eingegangen am 24. Juni 1950.)

In der vorliegenden Arbeit wurden von den Saponinen das den Digitalisglykosiden chemisch eng verwandte Digitonin Merck (Cholangruppe) und das strukturell andersartige Saponinum pur. alb. Merck (Sapotalingruppe), von anderen herzwirksamen Stoffen außerdem Coffeinum pur. und in einigen orientierenden Versuchen Sympatol auf ihre Permeabilitätsbeeinflussung geprüft.

Die ursprüngliche Fragestellung ergab sich aus der gegensätzlichen Permeabilitätsänderung durch Digitalisglykoside und Saponine bei zumindest äußerlich ähnlichem therapeutischem Effekt am isolierten Froschherzen. Für die Saponine wird allgemein eine permeabilitätsfördernde Wirkung angenommen (Lit. siehe bei Kofler[1]), während den Digitalisglykosiden nach methodisch auf verschiedenen Wegen gewonnenen Ergebnissen übereinstimmend eine abdichtende Wirkung zugeschrieben wird (Lit. siehe bei Lendle[2]). Die Frage gewinnt an Bedeutung, da die therapeutische Digitaliswirkung mit dieser Permeabilitätshemmung in Beziehung gebracht wird und neuerdings von Gremels[3] und Schülern eine originelle Deutung dieses Effektes im Rahmen der Potentialstofftheorie experimentell zu begründen versucht wurde.

Aus der Fülle der Methoden für Permeabilitätsstudien schien uns die von Ruppert[4] zur Beantwortung unserer Fragestellung am geeignetsten zu sein. Die Methode gestattete, eine Permeabilitätsbeeinflussung durch herzwirksame Stoffe am spezifischen Erfolgsorgan zu prüfen, ein Vorzug, der andere methodische Mängel zunächst in den Hintergrund treten ließ.

Ruppert[4] bestimmte stufenphotometrisch die Bindung des sauren Sulfosäurefarbstoffes Brillantkongorot (Br. K. R.) am elektrisch gereizten Ventrikelpräparat von Rana temporaria im Blindversuch und unter Zusatz membranwirksamer Stoffe. Für Tannin und g-Strophanthin konnte Ruppert[4] eine geringere Farbstoffbindung — als Permeabilitätshemmung gedeutet — zeigen, während Harnstoff als quellungsfördernder Stoff eine erhöhte Bindung bewirkte.

Im Verlaufe unserer Untersuchungen wurden einige überraschende Befunde erhoben, die im Widerspruch zu den in der Literatur niedergelegten Ergebnissen standen. Außerdem gelangte uns eine Arbeit von

SCHNEIDER[5] zur Kenntnis, die mit ähnlicher Methode unter Verwendung von Methylviolett zu vollkommen entgegengesetzten Befunden gekommen war. Es tauchten daher Zweifel auf, ob die Prüfung der Farbstoffbindung am Herzen überhaupt allgemeingültige Aussagen zum Permeabilitätsproblem gestattete, solange die Bindungsbedingungen der benutzten Farbstoffe und deren Durchtrittsmechanismus durch die Zellmembran nicht genügend gesichert sind. Bei der Besprechung der Ergebnisse soll deshalb nur insoweit auf die ursprüngliche Fragestellung eingegangen werden, als sich bei kritischer Betrachtung verwertbare Befunde ergaben.

Methodik.

Die Hauptversuche wurden von April bis Juli 1948 an überwinterten Grasfröschen und frisch gefangenen Wasserfröschen durchgeführt. Nach der üblichen Präparation und Einbinden einer STRAUB-Kanüle wurde der Ventrikel abgebunden (Stanniusligatur), so daß keine spontanen Kontraktionen mehr stattfanden. Das restliche Blut wurde mit RINGER sorgfältig ausgespült. Die elektrische Reizung erfolgte durch Öffnungsinduktionsschlag eines Schlitteninduktoriums, dessen Schließungsschlag nach der Anordnung von GENUIT und RUPPERT[6] ausgeblendet wurde. Die Reizfrequenz war bei allen Versuchen konstant 28 Schläge/Minute. Die Registrierung der Herzaktion gestattete eine Kontrolle der Amplitude. Nachdem sich das Herz auf eine konstante Hubhöhe eingearbeitet hatte, wurde der RINGER möglichst vollständig abgesaugt und in den Normalversuchen 1,0 cm³ einer Br. K. R.-RINGER-Lösung 1 : 2000 eingefüllt. Da sich eine Br. K. R.-RINGER-Lösung bei längerem Stehen verändert, empfahl es sich, die jeweils benötigte Menge aus einer in Aqua bidest. angesetzten Br. K. R.-Stammlösung und Doppel-RINGER vor jedem Versuch frisch herzustellen.

Nach jeweils 15, 30 und 60 min wurde mit einer Präzidenzspritze (Kühn, Frankfurt a. M.) genau 0,25 cm³ entnommen und mit Aqua dest. 50fach verdünnt. Die größeren Entnahmen (gegenüber RUPPERT[4]: 0,1 cm³) wurden notwendig, da wir im Gegensatz zu RUPPERT[4] nicht mit dem Stufenphotometer, sondern mit dem lichtelektrischen Photometer nach HAVEMANN arbeiteten und dafür mindestens 10 cm³ zum Füllen der Küvetten benötigten. Die Konzentration, Entnahme und Verdünnung wurden so gewählt, daß in jeweils 1,0 cm³ der zur Kolorimetrie bestimmten Lösung 10 γ Br. K. R. enthalten waren. An Hand von ansteigenden Lösungen mit 1—10 γ/cm³ Gehalt war vorher eine Eichkurve, deren Konzentrationen in einem linearen Verhältnis zu den abgelesenen Zahlenwerten standen, angelegt worden. Dabei waren Schwierigkeiten zu überwinden, da die Farbtiefe trotz Einhalten aller Vorsichtsmaßregeln nach Stehenlassen stets absank. In RINGER, Kochsalz oder Aqua bidest. angesetzte Lösungen zeigten grundsätzlich das gleiche Verhalten. Schließlich konnte festgestellt werden, daß lediglich bereits einmal kolorimetrierte Farblösungen diesen starken Veränderungen unterworfen waren. Es ist also notwendig, alle Farbstofflösungen nur einmal zu kolorimetrieren. Nachfolgend die für die jeweiligen Konzentrationen gefundenen und in Kontrollen mehrfach bestätigten Kolorimeterwerte (Filter BG 7):

1,0 γ pro cm³ = 44	6,0 γ pro cm³ = 208
2,0 γ „ „ = 83	7,0 γ „ „ = 238
3,0 γ „ „ = 111	8,0 γ „ „ = 267
4,0 γ „ „ = 149	9,0 γ „ „ = 296
5,0 γ „ „ = 171	10,0 γ „ „ = 318

Um die bei dem jeweiligen Frischansetzen der verwendeten Lösungen unvermeidlichen geringen Schwankungen im Gehalt an Br. K. R. zu berücksichtigen, wurde aus der zur Anwendung gelangten Lösung 0,25 cm³ entnommen, ebenfalls 50fach verdünnt, und die kolorimetrisch gefundene Menge als Ausgangswert für die Berechnung der späteren Entnahmen zugrunde gelegt. Da die absolute Menge an gebundenem Farbstoff unter anderem von der Größe der verwendeten Herzen abhängt, wurden die Herzen nach dem Versuch aufgeschnitten, mit Filtrierpapier trocken getupft, gewogen und die gefundenen Verluste an Farbstoff auf 50 mg Herzgewicht berechnet. Es erhob sich der Verdacht, daß die Bindungsgröße nicht proportional dem Herzgewicht verläuft, da die Bindung ja eine Funktion der Oberfläche darstellt. Im Laufe der Versuche bestätigte sich diese Annahme, daß große Herzen relativ weniger binden als kleine, so daß größere Streuungen entstehen konnten. Versuche, bei denen diese Streuung offensichtlich dem kleinen bzw. großen Herzgewicht zuzuschreiben war, wurden bei der Berechnung der Mittelwerte ausgeschlossen.

Die jeweiligen absoluten Hubhöhen wurden gemessen und in Prozent der anfänglichen Hubhöhe den Bindungswerten des Farbstoffes gegenübergestellt.

Bei der Auswertung wurden die bekannten mathematischen Verfahren zur Berechnung des Mittelwertes und der mittleren Streuung bzw. des mittleren Fehlers herangezogen. Zur Ermittlung der signifikanten Differenz war nach Pütter[7] und Burn[8] zu fordern, daß der 3fache gemeinsame mittlere Fehler zweier Versuchsreihen (mg), der sich nach der Formel $\pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$ berechnet, kleiner ist als die Differenz der Mittelwerte $(M_1 - M_2)$.

Die Tabellen führen aus Raumersparnis jeweils nur die Mittelwerte und mittleren Streuungen der Farbstoffbindung und die mittleren prozentualen Hubhöhen aus mindestens 5 Versuchen, die den geforderten Ansprüchen genügen, an. In der Tab. 4 finden sich außerdem nur diejenigen Werte, die signifikante Differenzen zwischen 2 Reihen zeigen, bzw. annähernd in diesem Bereich liegen.

Protokollbeispiel:

Nr.	Datum	Versuchsbedingungen	Herzgew.
84	21. 4. 48	Wasserfrosch, hypodynam. Herz Br. K. R. + Digitonin 1 : 40000	60 mg

	Kontr. bzw. Ausgangswert	15 min	30 min	60 min
Kolorimeterwerte	310	213	185	157
Br. K. R.-Gehalt	9,7	6,2	5,4	4,4
Prozentuale Bindung	—	36,1%	44,3%	54,6%
Berechnet auf 50 mg Herzgew. .	—	30,1%	36,9%	45,5%
Hubhöhen absolut (in cm) . . .	2,0	2,2	2,6	3,0
Hubhöhen in % des Ausgangs .	100	110	130	150

Versuchsergebnisse.

1. Bindung ohne Giftzusatz (Tabelle 1).

In 4 Reihen ohne Giftzusatz wurde zunächst die Normalbindung ermittelt, um mit späteren Versuchen vergleichbare Zahlen zu gewinnen. Die Herzen von Gras- und Wasserfröschen zeigten grundsätzlich das gleiche Verhalten, lediglich in der Bindungsgröße war bei den beiden

vergleichbaren* (d. h. nichtbelüfteten) Reihen ein geringer quantitativer Unterschied ersichtlich. Aus den Zahlenwerten ist zu entnehmen, daß die Hauptbindung des Br. K. R. in der ersten Hälfte des Versuches bereits abgeschlossen ist, die weiteren Zunahmen sind unbedeutend (Tab. 3 A). Der merkwürdige Befund einer um fast 100% höher liegenden Farbstoffbindung der belüfteten Herzen gegenüber den unbelüfteten soll in einer späteren Arbeit weiter verfolgt werden.

Tabelle 1. *Mittelwerte der Br. K. R.-Bindung am Froschherzen ohne Giftzusatz und mittlere prozentuale Amplitudenhöhe (Normalfrosch).*

a = absolute Bindung, b = mittlere Streuung, c = mittlere prozentuale Amplitudenhöhe.

Versuchsbedingungen	15 min			30 min			60 min		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
I. Grasfrösche									
1. nicht belüftet . .	22,1	± 3,00	73	31,4	± 3,82	66	33,5	± 3,36	40
II. Wasserfrösche									
1. nicht belüftet . .	17,8	± 3,58	112	23,7	± 3,99	86	25,6	± 3,41	56
2. belüftet	33,1	± 5,51	123	43,1	± 6,88	104	50,6	± 7,55	55
3. belüf. hypodyn.	21,4	± 4,76	120	32,0	± 8,16	140	51,3	± 9,23	136

Eine direkte Einwirkung auf das Br. K. R. muß abgelehnt werden, denn ein entsprechender Leerversuch in einer unten verschlossenen, mit 1,0 cm³ Br. K. R.-Lösung gefüllten und belüfteten STRAUB-Kanüle ergab praktisch keine Abnahme des Farbstoffgehaltes (nach 60m 96% des Anfangsgehaltes vorhanden).

Um eventuelle Hemmungen der Permeabilität durch die zu prüfenden Stoffe deutlicher zu machen und um Vergleichswerte zu erhalten, wurde eine Versuchsserie an hypodynamen Herzen durchgeführt. Die Hypodynamie wurde dabei durch einen über 20 min währenden im Abstand von 1 min durchgeführten RINGER-Wechsel erreicht (Durchspülungshypodynamie nach CLARK[9]). Ein fast bis zum Stillstand führender negativ inotroper Effekt des Br. K. R. überdeckte aber vollständig die erwartete höhere Farbstoffbindung. Mit zunehmender Erholung und damit gesteigertem Austausch der Farblösung zwischen Kanüle und Ventrikel wurde die Bindung nachgeholt. Die hohe letzte Zunahme (60%) läßt vermuten, daß nach 60 min die Gesamtbindung noch nicht abgeschlossen war, so daß diese Versuche nur bedingten Wert besitzen.

Die Herzfunktion (Amplitudenhöhe) wurde aus später zu erörternden Gründen jeweils mit angeführt. Sie läßt bei den Herzen von Rana tempo-

* Die ersten Versuche an Rana temporaria wurden wegen der Gefahr starker Schaumbildung bei Prüfung der Saponine durchweg ohne Belüftung des Inhalts der STRAUB-Kanüle durchgeführt. Wegen zunehmender Außentemperatur (Sommermonate) und der Gefahr ungenügender Leistung der Herzen bis Versuchsende wurden die späteren Versuche an Rana esculenta mit vorsichtiger Belüftung durchgeführt. Lediglich zur Kontrolle wurde eine Serie ohne Belüftung angesetzt.

raria einen konstanten Abfall infolge des schädigenden Einflusses des Br. K. R. erkennen, bei den Herzen von Rana esculenta nach einer vorübergehenden Leistungssteigerung. Lediglich bei den hypodynamen Herzen trat infolge der stark abgesunkenen Amplitudenhöhe vor Einfüllen des Br. K. R. und der späteren Erholung eine relative aber nicht absolute Zunahme ein.

2. *Bindung mit Giftzusatz* (Tabelle 2).

Die schlechte Wasserlöslichkeit des Digitonins machte die Herstellung von Konzentrationen unmöglich, die bei tropfenweiser Zugabe noch eine Wirkung erhoffen ließen. Lösungsvermittler schieden wegen ihrer möglichen Eigenwirkung aus. Es wurde deshalb Digitonin 1 : 20000 und 1 : 50000 in Doppel-Ringer gelöst und vor den Versuchen jeweils mit der in Aqua bidest. angesetzten Br. K. R.-Lösung 1 : 1000 gemischt. In entsprechender Weise wurden von Sapon. pur. alb. Stammlösungen 1 : 10000 und 1 : 25000 benutzt.

Tabelle 2. *Mittelwerte der Br. K. R.-Bindung am Froschherzen mit Giftzusatz und mittlere prozentuale Amplitudenhöhe.*

a = absolute Bindung, b = mittlere Streuung, c = mittlere prozentuale Amplitudenhöhe.

Versuchsbedingungen	a	b	c	a	b	c	a	b	c
I. Grasfrösche									
1. Koffein 1 : 1000	10,9	± 1,38	81	11,5	± 1,52	64	12,5	± 1,48	18
2. Koffein 1 : 8000	18,4	± 3,59	77	22,2	± 3,65	52	25,5	± 4,21	15
3. Koffein 1 : 20000	19,2	± 2,22	85	26,5	± 4,89	65	30,5	± 6,88	47
4. Sympatol 1 : 200000	17,9	± 3,75	88	22,7	± 4,41	81	27,7	± 6,07	56
5. Digitonin 1 : 40000	14,5	± 2,80	93	24,0	± 5,55	91	30,9	± 6,55	39
6. Digitonin 1 : 100000	23,2	± 3,03	94	32,1	± 5,76	79	35,2	± 3,35	22
7. Saponin 1 : 20000	13,5	± 3,98	83	18,8	± 5,63	65	20,9	± 6,34	59
8. Saponin 1 : 50000	18,8	± 4,38	116	27,8	± 4.84	94	35,3	± 5,40	56
II. Wasserfrösche									
1. Digitonin 1 : 40000	25,2	± 4,67	113	31,1	± 4,29	123	39,2	± 4,07	122
2. Digitonin 1 : 100000	23,4	± 4,47	105	32,5	± 7,27	111	43,2	± 9,01	101
3. Digitonin 1 : 40000 (hypodyn. Herz)	22,8	± 4,48	131	27,9	± 5,35	147	35,4	± 6,46	127

Die Werte unter *Koffein* lassen eine ganz erhebliche Abnahme der Farbstoffbindung erkennen. Zwischen Konzentration und Stärke der Hemmung sind eindeutige Beziehungen ersichtlich. Die schwächste Konzentration 1 : 20000 dürfte etwa die Grenzkonzentration darstellen, bei der man noch von einer Wirkung sprechen kann. Die Herzfunktion zeigt allgemein eine stärkere Tendenz zur Verschlechterung als im Leerversuch, die Wirkung geht etwa parallel der Konzentration.

Unter *Sympatol* 1 : 200 000 ist eine geringere Hemmung der Farbstoffaufnahme nachweisbar. Die Herzfunktion läßt bei Vergleich mit den Normalversuchen keine Differenzen erkennen. Da nur eine Konzentration geprüft wurde, aus der sich keine signifikante Differenz errechnen läßt (Tab. 4), ist die Beweiskraft dieser Ergebnisse etwas zweifelhaft.

Eindeutige Befunde, und zwar im Sinne einer Hemmung der Farbstoffbindung waren dagegen mit *Digitonin* und *Saponinum pur. alb.* zu erzielen. Der Effekt ist unabhängig von der Saponinart und zeigt lediglich einen konzentrationsbedingten Wirkungsgrad. Die Werte für Digitonin 1 : 100000 lassen eine geringfügige Förderung erkennen, die allerdings innerhalb des Streuungsbereiches liegt. Bei den Versuchen an Herzen von Rana esculenta ist prinzipiell die gleiche Wirkung nachweisbar. Die Werte am hypodynamen Herzen zeigen eine Hemmung erst gegen Ende des Versuches. Die Herzfunktion läßt keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den nicht vergifteten Herzen erkennen, lediglich bei den Herzen von Rana esculenta tritt unter Digitonin eine Erhöhung der Amplitude ein.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei der kritischen Beurteilung ist zu bedenken, daß die Farbstoffbindung eine Funktion von 3 veränderlichen Systemen ist, nämlich Substratbindungsfähigkeit, Membranpermeabilität und Herzaktion. Alle 3 können durch Zusatz der geprüften Stoffe in verschiedenem Maße beeinflußt werden.

Ohne Giftzusatz ist nach 30 min die Bindungsfähigkeit des Ventrikels für Br. K. R. praktisch erschöpft, d. h. es ist ein Diffusionsausgleich eingetreten. Die insgesamt gebundene Menge erweist sich demnach als eine Funktion des Substrates, und verschiedene Bindungsgrößen erlauben nur bedingte Rückschlüsse auf eine Permeabilitätsänderung. Letztere kann dagegen aus einer zeitlichen Verschiebung des Diffusionsausgleiches erkannt werden, die Gesamtbindung darf im Idealfalle keine Änderung erfahren. Die Herzfunktion als dritter Faktor beeinflußt die Farbstoffbindung über eine veränderte Austauschgröße der Farblösung zwischen Ventrikel und Kanüle. Der Austausch wechselt je nach Wirkungstyp der Herzgifte (Digitalisglykoside und ähnlich Saponine: Verstärkung der Systole. Koffein: ungenügende Erschlaffung in der Diastole, im toxischen Bereich Kontrakturneigung).

Unter sorgfältiger Beachtung dieser Punkte lassen sich unter den geprüften Stoffen 2 grundsätzlich verschiedene Wirkungstypen herausarbeiten, und zwar 1. Koffein und 2. Saponine. Das Sympatol läßt sich ohne Zwang weder der einen noch der anderen Gruppe zuordnen.

1. Coffeinum pur.

Die Möglichkeit einer funktionellen Beeinflussung der Farbstoffbindung ist gerade bei Koffein, das ausgesprochene Tendenzen zu einer Kontrakturneigung und damit geringeren diastolischen Erschlaffung zeigt, sehr groß. Wie aus der Tab. 2 hervorgeht, sind die Hubhöhen unter Einwirkung der beiden stärksten Konzentrationen 1 : 1000 und 1 : 8000 nach 60 min kleiner als der Vergleichswert, auch die Amplituden nach 30 min zeigen bereits etwas niedrigere Werte. Eine Hemmung ist aber ganz deutlich beim Anfangswert, der unter Koffein 1 : 1000 trotz verbesserter Leistung nur 49% des Normalwertes beträgt. Die geringen

weiteren Zunahmen der Br. K. R.-Bindung im Laufe des Versuches müssen also wenigstens zum Teil durch die Funktionsänderung infolge Koffein erklärt werden.

Im übrigen zeigt das Koffein das oben dargestellte typische Bild eines Stoffes mit Auswirkungen auf die Substratbindungsfähigkeit, nämlich anfängliche starke Hemmung und weiterhin nur außerordentlich geringe Zunahmen (Tab. 3). Die Endwerte der Bindung liegen erheblich tiefer als die Vergleichswerte. Eine direkte Beeinflussung der Membran im Sinne einer Permeabilitätshemmung kann aus diesen Versuchsergebnissen nicht abgelesen werden.

Tabelle 3. *Prozentuale Zunahme der Farbstoffbindung im Verhältnis zum vorhergehenden Wert.*

	15 min	30 min	60 min
	absolute Bindung	prozentuale Zunahme gegenüb. 15 min	prozentuale Zunahme gegenüb. 30 min
A. Ohne Giftzusatz			
I. Grasfrösche			
1. nicht belüftet	22,1	42	7
II. Wasserfrösche			
1. nicht belüftet	17,8	33	8
2. belüftet	33,1	30	17
3. belüftet hypodyn.	21,4	50	60
B. Mit Giftzusatz			
I. Grasfrösche			
1. Koffein 1: 1000 . . .	10,9	6	9
2. Koffein 1: 8000 . . .	18,4	21	15
3. Koffein 1: 20000 . . .	19,2	38	15
4. Sympatol 1: 200000 . . .	17,9	27	22
5. Digitonin 1: 40000 . . .	14,5	66	29
6. Digitonin 1: 100000 . . .	23,2	38	10
7. Saponin 1: 20000 . . .	13,5	37	11
8. Saponin 1: 50000 . . .	18,8	48	27
II. Wasserfrösche			
1. Digitonin 1: 40000 . . .	25,2	23	26
2. Digitonin 1: 100000 . . .	23,4	39	33
3. Digitonin 1: 40000 (hypodyn. Herz)	22,8	22	27

Sie stehen damit in Widerspruch zu der Ansicht eines permeabilitätshemmenden Effektes des Koffeins. Die entquellenden Wirkungen, die SECHER[10] in höheren Konzentrationen am Skelettmuskel feststellte, werden vor allem von GREMELS[3] u. Mitarb. in Beziehung zu Sensibilisierungen und Abschwächungen der Vagusreizwirkung am Herzen gesetzt und als direkte Ursache eine Permeabilitätshemmung angenommen. Einen gegensätzlichen Effekt mit Koffein beobachtete dagegen ASHBELL[11], die in 0,01 und 0,1% iger Lösung eine beschleunigte Aufnahme von Cyanol und Trypanblau bei Seetieren fand. Ein Eingriff des Koffeins in den Stoffwechsel der Zelle und damit eine eventuelle Substratänderung im weitesten Sinne

ist durch Untersuchungen von Riesser[12] am isolierten Muskel wahrscheinlich gemacht worden. Die Anhäufung von Milchsäure, die Weese [13] später an Gehirn- und anderen Schnitten bestätigen konnte, soll durch eine Restitutionshemmung des Laktazidogens entstehen. Die Ergebnisse wurden später durch Eichler[14] anders gedeutet, so daß eine einigermaßen klare Vorstellung über die Art des Eingriffes noch aussteht.

2. Sympatol.

Die Bindungsgrößen unter Sympatol lassen keine eindeutigen Rückschlüsse auf die näheren Ursachen der Hemmung der Br. K. R.-Aufnahme zu. Eine Funktionsminderung war durch die Sympatolgaben nicht eingetreten; im Gegenteil, die Amplitudenhöhen lagen bei allen Ablesungen über denen des Normalherzens, so daß als Ursache der geringeren Br. K. R.-Bindung eine Funktionsänderung ausgeschlossen werden kann. Aus den Ergebnissen kann lediglich gesagt werden, daß die Hemmung wahrscheinlich durch eine direkte Substratänderung und eine Hemmung der Permeabilität hervorgerufen wurde.

3. Saponine.

Die Bindung von Br. K. R. unter Digitonin und Sapon. pur. alb. läßt eine sichere Hemmung erkennen, die allerdings bei Anlegung des oben erwähnten strengen Maßstabes der mathematischen Auswertung in keinem Falle signifikante Differenzen errechnen läßt (Tab. 4). Die Ergebnisse dürften aber trotzdem genügend Beweiskraft besitzen, denn es ließ sich deutlich eine direkte Beziehung zwischen Konzentrationsstärke und Hemmungseffekt erkennen. Die stärkste Konzentration Sapon. pur. alb. 1 : 20000 bremste den Eintritt von Br. K. R. in die Zelle am stärksten. Dann folgte Digitonin 1 : 40000, Sapon. pur. alb. 1 : 50000 und schließlich Digitonin 1 : 100000. Damit ist gleichzeitig erwiesen, daß die Permeabilitätshemmung in unserem Falle eine allgemeine Saponineigenschaft ist und sich bei strukturell abweichendem Aufbau keine Unterschiede zeigen.

Die Herzfunktion wurde mit Ausnahme von Digitonin an den Herzen von Grasfröschen durch die beiden Saponine günstig beeinflußt und damit ein besserer Austausch zwischen Ventrikel und Kanüle erzielt. Die Hemmwirkung hätte unter gleichen funktionellen Verhältnissen wie in den Versuchen ohne Giftzusatz deshalb noch deutlicher hervortreten müssen. Der Bindungsmodus weist auf eine direkte Membranwirkung hin, d. h. Verzögerung des Diffusionsausgleiches. Die Größe der Gesamtbindung nach erfolgtem Ausgleich, der lediglich unter der stärksten Konzentration Sapon. pur. alb. 1 : 20000 nach 60 min noch nicht eingetreten war, liegt im Streuungsbereich des Normalwertes (Tab. 1 u. 2).

Dieser Befund war einigermaßen überraschend, da allgemein angenommen wird, daß den Saponinen eine permeabilitätssteigernde Wirkung zukomme.

Tabelle 4. *Signifikante Differenzen.*
(Es wurden nur diejenigen Werte aufgenommen, die signifikant waren oder annähernd in diesem Bereich lagen.)

Verglichene Versuchsbedingungen	15 min		30 min		60 min	
	3 × mg	$M_1 - M_2$	3 × mg	$M_1 - M_2$	3 × mg	$M_1 - M_2$
Grasfrosch ⟷ Grasfrosch ohne Gift ⟷ Koffein 1 : 1000	9,9	11,2	11,7	19,9	11,1	21,0
„ „ ⟷ Grasfrosch Koffein 1 : 8000	14,1	3,7	15,9	9,2	16,2	8,0
„ „ ⟷ Grasfrosch Sympatol 1 : 200000	14,4	4,2	17,7	8,7	21,0	5,8
„ „ ⟷ Grasfrosch Digitonin 1 : 40000	12,3	7,6	22,5	7,4	—	—
„ „ ⟷ Grasfrosch Saponin 1 : 20000	15,0	8,6	18,0	12,6	21,6	12,6
Wasserfrosch ⟷ Wasserfrosch nicht belüftet belüftet	19,8	15,3	24,0	19,4	24,6	25,0
Wasserfrosch ⟷ Wasserfrosch ohne Gift Digitonin 1 : 40000	23,7	7,9	24,3	12,0	25,5	11,4
Wasserfrosch ohne Gift ⟷ Wasserfrosch Digitonin 1 : 40000 hypodynam. hypodynam.	—	—	—	—	33,9	15,9

Die Ergebnisse stehen damit speziell im Widerspruch zu Befunden von Hoekstra[15] und Postojeff[16]*, die eine verstärkte Digitoxinwirkung auf das isolierte Froschherz nach Saponinzugabe mit einer Erhöhung der Membrandurchlässigkeit erklärten. Schneider[5] konnte ebenfalls für Methylviolett unter Strophanthin (im Gegensatz zu Ruppert[4], der für Br. K. R. eine Hemmung fand) und Sapon. pur. alb. eine verstärkte Bindung am isolierten Froschherzen feststellen. Eine Deutung dieser Widersprüche kann nach dem augenblicklichen Stand der weitergeführten Untersuchungen noch nicht gegeben werden. Möglicherweise ist diese Differenz mit der Verwendung verschiedener Farbstoffe (Methylviolett: basisch und lipoidlöslich, Br. K. R.: sauer und lipoidunlöslich) zu erklären.

Für die Beantwortung der anfangs als Fragestellung aufgezeigten Diskrepanz einer gegensätzlichen Membranbeeinflussung der Digitalisglykoside und der Saponine bei gleicher Wirkung am isolierten Herzen

* Die Ergebnisse dieser beiden Autoren lassen sich allerdings auch anders deuten. Da als Maß der Digitoxinwirkung die Zeit bis zum Eintritt des systolischen Herzstillstandes benutzt wurde und da Saponin ebenfalls ein Kontrakturgift ist, handelt es sich bei gleichzeitiger Anwendung beider Stoffe wahrscheinlich um eine Summation der Effekte.

lassen sich dennoch einige wichtige Punkte herausstellen. Auffällig ist zunächst, daß *Strophanthin und Saponine grundsätzlich die Permeabilität am Herzen gleichsinnig beeinflussen*, bei Schneider[5] für die Bindung von Methylviolett fördernd, bei Ruppert[4] und den vorliegenden Ergebnissen für Br. K. R. hemmend*. Der Schluß, daß zwischen therapeutischem Effekt und Permeabilitätsbeeinflussung — trotz der gegensätzlichen Befunde — eine Beziehung besteht, erscheint naheliegend. Eine Verallgemeinerung in dem Sinne, bei Strophanthin und Saponinen von einer Permeabilitätssteigerung oder -hemmung zu sprechen, ist allerdings in keinem Falle möglich, solange die Bindungs- und Permeationsbedingungen der benutzten Farbstoffe noch unklar sind. Insofern sind weder unsere Befunde als Stütze der Gremelsschen Auffassung einer direkten Beziehung zwischen Permeabilitätshemmung und therapeutischem Effekt der Digitalisglykoside zu verwerten, noch sprechen die Befunde von Schneider[5] dagegen.

Zusammenfassung.

Es wurde die Bindungsfähigkeit von Br. K. R. am isoliert schlagenden elektrisch gereizten Ventrikelpräparat von Rana temporaria und esculenta unter Einwirkung membranwirksamer Stoffe quantitativ geprüft. Koffein, Sympatol und die beiden Saponine Digitonin Merck und Saponinum pur. alb. Merck zeigten an beiden Froscharten proportional ihren Konzentrationen eine Hemmung der Farbstoffaufnahme, für die verschiedene Deutungsmöglichkeiten diskutiert wurden.

Schlußfolgerungen aus diesem Verhalten, z. B. aus der etwaigen Permeabilitätshemmung durch Saponine und Strophanthin auf den therapeutischen Wirkungsmechanismus können noch nicht eindeutig begründet werden.

Literatur.

[1] Kofler: Die Saponine. Wien 1927. — [2] Lendle: Heffter Hdb. exp. Pharmakolog. Erg. Bd. I, S. 140. — [3] Gremels: Erg. Physiol. **42**, 96 (1939). — [4] Ruppert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 612 (1942/43). — [5] Schneider: Diss. Göttingen 1948. — [6] Genuit u. Ruppert: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 684 (1942/43). — [7] Pütter: Die Auswertung zahlenmäßiger Beobachtungen in der Biologie. Leipzig 1929. — [8] Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin 1937. — [9] Clark: J. of Physiol. (brit.) **47**, 66 (1913/14). — [10] Secher: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **77**, 83 (1914). — [11] Ashbel: zit. nach Fröhlich: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **166**, 85 (1932). — [12] Riesser u. Neuschloss: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **93**, 163 (1922). — [13] Weese: Med. u. Chem. II, 148 (1934). — [14] Eichler: Kaffee u. Coffein. Berlin 1938. — [15] Hoekstra: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **163**, 46 (1932). — [16] Postojeff: Biochem. Z. **36**, 335 (1911). — [17] Schwager: Diss. Leipzig 1948. — [18] Nierenstein: Pflügers Arch. **179**, 233 (1920).

* In kürzlich abgeschlossenen Untersuchungen konnte Schwager[17] in unserem Institut für die Anfärbbarkeit von Opalina ranarum ähnliche Ergebnisse erzielen. Sapon. pur. alb. verhinderte in nicht toxischen Konzentrationen von 1 : 100—200000 die Färbung mit Nachtblau und Neutralrot. Mit k-Strophanthin war ab 1 : 50000 bis 100000 ebenfalls eine sichere Hemmung der Farbstoffaufnahme nachzuweisen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 205—213 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Zur Spaltung von Peptidbindungen in Proteinen durch Hypochlorit.

Von

HANS HERKEN und HEINZ-OTTO SILBERSIEPE.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juli 1950.)

Untersuchungen an Serumproteinen im WARBURG-Apparat, bei denen die Geschwindigkeit der Spaltung von Peptidbindungen durch Messung der gebildeten Kohlensäure und des gasförmigen Stickstoffes verfolgt wurde, ergaben deutliche Differenzen zwischen Globulin und Albumin, so daß uns das Verfahren zum Nachweis qualitativer Veränderungen von Serumproteinen geeignet schien[1]. Die vorliegende Arbeit versucht mit anderer Methodik weitere Beweise dafür zu erbringen, daß die Geschwindigkeit der Spaltung von Peptidbindungen durch Hypochlorit auch bei den hochmolekularen Naturstoffen durch die Struktur der Substrate gesteuert wird. Für diese Versuche benutzten wir wiederum Serumproteine. Die Darstellung der Eiweißkörper erfolgte wie in früheren Versuchen[2] durch fraktionierte Fällung mit Na_2SO_4. Bei entsprechender Fraktionierung erhält man so typische Kurven, in denen die einzelnen Proteinanteile auf der Basis elektrophoretischer Ergebnisse unterschieden werden können. Wir bezeichnen die dem γ-Globulin in der Quantität entsprechende Fraktion als Fraktion I, die weiteren dem β- und α-Globulin sowie dem Albumin entsprechenden als II, III und IV. Einzelheiten der Versuchsanordnung, die in dieser Form zuerst von C. MAJOOR[3] angegeben wurde, sind an anderer Stelle ausführlich wiedergegeben[2].

Um einen Überblick über die Veränderung in der Löslichkeit der Eiweißkörper nach Einwirkung von Hypochlorit zu bekommen, ließen wir zunächst eine bestimmte Menge des Oxydationsmittels auf das Serumproteingemisch einwirken. Die Hypochloritlösung wurde wie in früheren Untersuchungen durch Einleiten gasförmigen Chlors in n-NaOH hergestellt, ihr Gehalt an NaOCl vor jedem Versuch durch Titration mit $Na_2S_2O_3$ ermittelt. Die Lösung enthielt 28,8 mg NaOCl/cm³. Da die Fällungseigenschaften der Proteine auch von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig sind, wurden die Ansätze zur Erzielung gleicher Versuchsbedingungen durch Zugabe von molarer Essigsäure zu der NaOCl-Lösung unter Verwendung einer Glaselektrode auf p_H 7,8 eingestellt. Im Parallelversuch wurde eine äquivalente Menge NaOH und

molarer Essigsäure von p_H 7,8 dem Proteingemisch zugesetzt. Die dadurch entstandene Verdünnung des Serums mußte bei der Zugabe der Na_2SO_4-Lösungen berücksichtigt werden.

Das im ersten Versuch dargestellte menschliche Serum weist besonders in der ersten Fraktion höhere Globulinwerte auf als früher untersuchte normale Seren. Die Abb. 1 u. 2 zeigen das gleiche Serum vor und nach 12stündiger Einwirkung von Hypochlorit bei 37°. Hierbei kamen 2 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N zur Einwirkung. Der prozentuale Abbau ergibt sich nach erfolgter Peptidspaltung aus der Rest-N-Erhöhung und

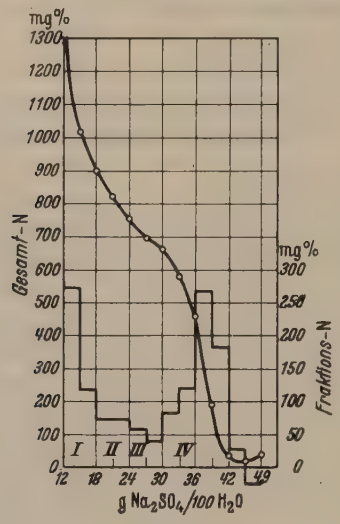


Abb. 1.

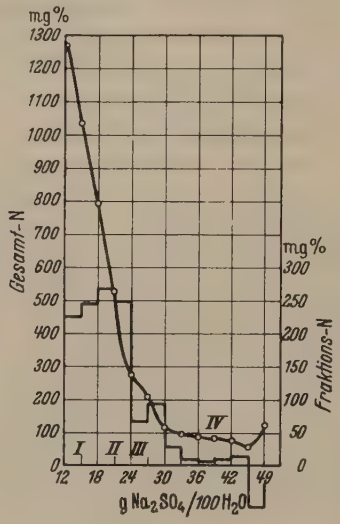


Abb. 2.

Abb. 1. Menschliche Serumproteine vor Einwirkung von NaOCl (2 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N). Rest-N 34,1 mg%.

Abb. 2. Menschliche Serumproteine nach Einwirkung von NaOCl (2 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N). Rest-N 74,3 mg%.

dem gasförmigen Stickstoffverlust. Die Daten für den sogenannten Rest-N gelten für den nach Fällung mit Trichloressigsäure ermittelten Wert. Später angeführte Untersuchungen haben ergeben, daß die Peptidspaltung auch bei einem Verhältnis von 3 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N nach 90 min abgeschlossen ist, so daß anschließend die fraktionierte Fällung mit Na_2SO_4 bei 37° erfolgen kann. Die Abszisse enthält die Na_2SO_4-Konzentration bei der jeweils ein bestimmter Teil des Serumeiweißes gefällt wurde, die Ordinate die Stickstoffmenge in mg%, die bei der angegebenen Salzkonzentration in Lösung bleibt, daneben in Gestalt von Blockdiagrammen die Werte für die Fraktionen, die aus der Differenz des in Lösung gebliebenen Protein-N von einer Fraktionsstufe bis zur nächst höheren Salzkonzentration errechnet wurden. Sie sind der besseren

Übersicht wegen in doppeltem Maßstab dargestellt. Die auf den Abszissen verzeichneten Werte geben die Na_2SO_4-Konzentration *vor* der Zugabe des Serums an (vgl.[2]). Sie liegen *nach* Zugabe des Serums um 5 % tiefer.

Nach Einwirkung von Hypochlorit zeigen nun die Löslichkeitsbestimmungen ein ganz anderes Bild. Die Albumin-Fraktion ist nahezu völlig verschwunden, doch läßt sich bei einem Vergleich der Kurven erkennen, daß es nicht nur zu einem Protein-Abbau, sondern auch zu einer Veränderung der Löslichkeit des Albumin-Anteiles kommt, der bereits bei niedrigeren Neutralsalzkonzentrationen ausfällt. Nur so läßt sich die Zunahme des Globulinanteiles nach Einwirkung von NaOCl

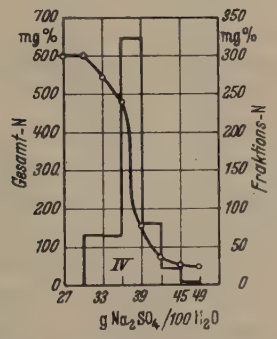


Abb. 3.

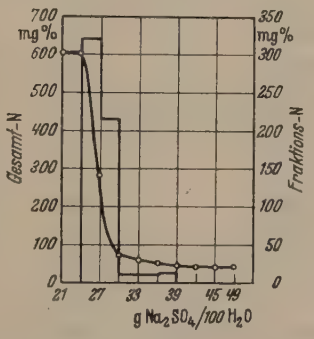


Abb. 4.

Abb. 3. Löslichkeitsbestimmungen am Serumalbumin vor Einwirkung von NaOCl (1 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N p_H 7,8, Zeit der Einwirkung 3 Std 37°). Rest-N 34 mg %.

Abb. 4. Löslichkeitsbestimmungen am Serumalbumin nach Einwirkung von NaOCl (1 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N p_H 7,8, Zeit der Einwirkung 3 Std 37°). Rest-N 40 mg %.

erklären. Diese Veränderung der Löslichkeit läßt sich auch am isolierten Serumalbumin demonstrieren.

Es ist möglich, daß dieser Effekt auf die Oxydation der Guanidinogruppen im Arginin zurückzuführen ist[4], ohne daß dabei eine Spaltung von Peptidbindungen zustande kommt. Dies ist z. B. bei geringen Hypochloritmengen der Fall.

Löslichkeitsbestimmungen an den Proteinen des Pferdeserums lieferten ein prinzipiell ähnliches Ergebnis. Das Pferdeserum unterscheidet sich vom menschlichen Serum neben strukturellen Abweichungen innerhalb der einzelnen Proteinanteile bekanntlich auch in der quantitativen Zusammensetzung. Es überwiegen bei weitem die Globuline, vor allem der dem γ-Globulin entsprechende Anteil. Der nach Einwirkung von Hypochlorit ermittelte sogenannte Rest-N ist höher als bei menschlichem Serum, d. h. daß die Peptidbindungen in bestimmten Proteinanteilen des Pferdeserums schneller gespalten werden als beim Menschen.

Die stärksten Abweichungen zeigt auch hier zweifellos der Albumin-Anteil, der jedoch im Gegensatz zum menschlichen Albumin weitgehend abgebaut wird, wie aus dem Vergleich mit der normalen Kurve hervorgeht. Die Löslichkeitsbestimmungen an den Proteingemischen lassen erkennen, daß die einzelnen Fraktionen nicht gleichmäßig mit dem Oxydationsmittel reagieren.

Um den störenden Faktor auszuschließen, der durch die Veränderung der Fällungseigenschaften des Albumins hervorgerufen wird, trennten wir das Albumin von den übrigen Proteinen ab. Bei diesen Untersuchungen zeigte sich nun, daß die Peptidbindungen im Pferdealbumin tat-

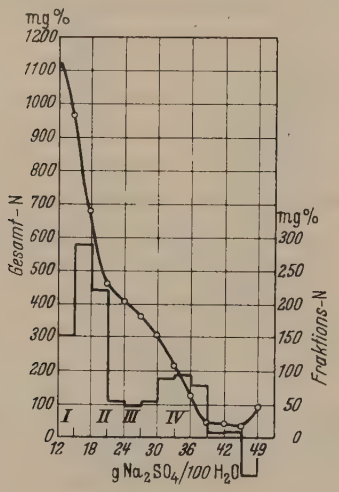


Abb. 5.

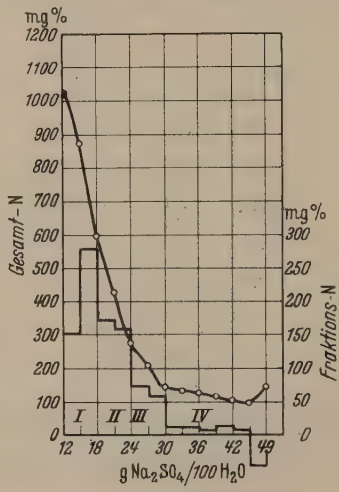


Abb. 6.

Abb. 5. Pferdeserum vor Einwirkung von NaOCl (2 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N). Einwirkungszeit 12 Std 37°. Rest-N 15,8 mg %.

Abb. 6. Pferdeserum nach Einwirkung von NaOCl (2 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N). Einwirkungszeit 12 Std 37°. Rest-N 124,4 mg %.

sächlich durch geringere Konzentrationen NaOCl aufgespalten werden, als die gleichen Bindungen im menschlichen Serumalbumin. Die Untersuchungen wurden ergänzt durch den Abbau von Rinder- und Hammelalbumin, wobei ein vergleichender Versuch mit Rinder-Serumalbumin der Behring-Werke durchgeführt wurde, das nach elektrophoretischen Ergebnissen von Dr. SCHOLTAN, Elberfeld, etwa 96% Albumin enthielt. Bei der Prüfung des prozentualen Abbaues dieses Albumins ergaben sich nur geringe Unterschiede gegenüber einem von uns hergestellten Eiweißkörper, bei dem die Globuline durch Neutralsalzfällung mit gesättigter Na_2SO_4-Lösung abgetrennt worden waren.

Nach Angaben von BRAND, KASSEL u. SAIDEL[5] unterscheiden sich die angeführten Eiweißkörper sehr stark in ihrer Zusammensetzung. Dies

zeigt sich zunächst in ihrem abweichenden Gehalt an basischen Aminosäuren. Das Rinderserumalbumin enthält besonders viel Arginin, der gleiche Eiweißanteil vom Pferd sehr viel mehr Lysin als menschliches Albumin. Auch die schwefelhaltigen Aminosäuren weisen erhebliche Abweichungen in der Quantität bei dreien der untersuchten Proteine auf. Hammelserum wurde in der erwähnten Arbeit nicht analysiert. Das Rinderalbumin enthielt mehr Tyrosin und Tryptophan als die beiden anderen Eiweißkörper und ebenso bestehen beträchtliche Unterschiede im Gehalt an Oxyaminosäuren und geringere bei den Monoaminodikarbonsäuren.

Tabelle 1. *Abbau von Serumalbumin durch Hypochlorit.*

Verhältnis von mg NaOCl zu mg Protein-N	Abbau in Prozent				
			Rind		
	Pferd	Mensch	Albumin durch Neutralsalzfällung dargestellt	Albumin der Behringwerke	Schaf
2 : 1	47	20	—	—	—
4 : 1	63,5	45	26,4	22,7	15,6
6 : 1	95	70,5	—	41,0	—
10 : 1	—	100	—	62,0	—

Versuchszeit 30 min im Ansatz 1,0—1,5 mg Protein-N/cm³. Der Abbau der Proteinmoleküle wurde nach Zusatz von Hypochlorit aus dem Verlust an gasförmigem Stickstoff und dem nach Fällung der hochmolekularen Eiweißanteile in Lösung verbleibenden „Rest-N" berechnet. Die NaOCl-Lösung wurde vor dem Versuch durch Zugabe von m-Essigsäure mit der Glaselektrode auf p_H 7,8 eingestellt. Innerhalb der p_H-Bereiche 7,8—10,0 konnten keine wesentlichen Differenzen beim Abbau beobachtet werden.

Die beim NaOCl-Abbau der Serumalbumine gefundenen Differenzen sind erheblich. Sie bestätigen und erweitern die mit anderer Methodik an synthetischen Substraten gefundenen Ergebnisse, daß nämlich die Proteinstruktur die Geschwindigkeit der Reaktion wesentlich bestimmt.

Auf Grund der bisherigen Versuche mit *synthetischen Peptiden*[6] läßt sich am Beispiel eines willkürlich zusammengesetzten Polypeptids zeigen, daß folgende Konfigurationen die Spaltungsgeschwindigkeit von Peptidbindungen beeinflussen können:

I. Zur *Auslösung* der Reaktion ist eine freie α-Aminogruppe notwendig, denn Karbobenzoxyglycylalanin wird nicht gespalten.

II. Die Geschwindigkeit der Spaltung von Peptidbindungen wird durch die Struktur der *Seitenketten* beeinflußt.

III. Eine freie *Guanidinogruppe* im Arginin scheint die Spaltung von Peptidbindungen zwischen der Karboxylgruppe des Arginins und der Aminogruppe der benachbarten Aminosäure zu katalysieren, wie aus Untersuchungen am α-Aminomonobenzoylargininamid geschlossen werden konnte[6].

Nach der heute geltenden Auffassung, die durch manches Experiment bewiesen ist, sind die Serumeiweißstoffe Sphäroproteine mit zahlreichen inneren Salzbindungen, daher müssen vor allem Abweichungen im Gehalt

an basischen und sauren Aminosäuren, aber auch Unterschiede in der Menge der Thiol- und Hydroxylgruppen zu Änderungen der räumlichen Anordnung der Polypeptidhauptketten führen. Dazu kommt noch, daß die Proteine des Serums durchaus nicht alle in reiner Form vorliegen, sondern mit anderen organischen Substanzen Verbindungen eingehen können, die für die sterische Anordnung der Peptidketten nicht gleichgültig sind. So wird verständlich, daß die Proteine außerordentlich empfindliche Naturstoffe sind, die bereits durch geringfügige Eingriffe verändert werden können.

Die räumliche Anordnung der Polypeptidketten solcher Makromoleküle wird in gelöstem Zustand sowohl unter den Bedingungen in vitro als auch in vivo von zahlreichen Faktoren beeinflußt, die zum Teil durch die innerhalb der Moleküle vorhandenen Kräfte, zum Teil durch die im Lösungsmittel vorhandenen Kat- und Anionen, durch die Wasserstoffionenkonzentration und schließlich auch durch die Temperatur gegeben sind. Beobachtungen bei der verschiedenen Aufarbeitung von Serumalbuminen sowie noch unveröffentlichte Untersuchungen[7] an hitzedenaturierten Proteinen sprechen dafür, daß sehr wahrscheinlich *sterische* Veränderungen allein genügen, um den Ablauf der Reaktion mit NaOCl zu beeinflussen, ohne daß die Zusammensetzung der Polypeptidhauptketten verändert zu sein braucht. Mit dieser Frage werden wir uns in einer späteren Untersuchung beschäftigen.

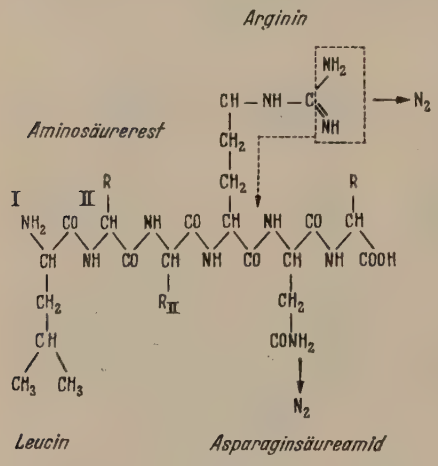


Abb. 7.
Schema eines willkürlich zusammengesetzten Polypeptids.

Schwieriger war es, mit Hilfe einfacher Methoden festzustellen, ob zwischen den einzelnen Globulinanteilen Unterschiede bei der Reaktion mit Hypochlorit bestehen. Auf Grund der oben erwähnten Untersuchungen ließ sich generell die Aussage machen, daß die Globulinfraktion schlechter abgebaut wird als die Albumine. Doch ergaben sich bei Untersuchungen der gesamten Globuline in der WARBURG-Apparatur wechselnde Mengen CO_2 und Stickstoff, so daß eine Klärung der Frage wünschenswert erschien, ob die dem γ- und β-Globulin entsprechenden Anteile verschieden schnell gespalten werden. Da diese Fraktionen bei den einzelnen Erkrankungen in der Quantität außerordentlich variieren, ist dieses Problem nicht nur theoretisch von Interesse.

In einer Reihe von Untersuchungen wurden die Proteinanteile mit bestimmten Konzentrationen Neutralsalz gefällt, durch Filtration abgetrennt und dann wieder in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die noch verbliebenen geringen Neutralsalzmengen wurden in den meisten Fällen durch Dialyse gegen 0,9% NaCl entfernt.

Es hat sich jedoch herausgestellt, daß diese geringen Mengen Na_2SO_4 die Reaktion der Globuline mit Hypochlorit nicht beeinflussen. Sämtliche Versuche wurden bei Temperaturen zwischen + 2 und + 4° durchgeführt, um eine Denaturierung der Proteine zu vermeiden. Zur Differenzierung der auf diese Weise gewonnenen Proteine wurden Löslichkeitsbestimmungen in Neutralsalzlösungen vorgenommen, die nach der Einwirkung von NaOCl auch zur Ermittlung der durch das Oxydationsmittel hervorgerufenen Veränderungen diente. Bei der Darstellung der Serumproteine durch Fällung mit Neutralsalzen werden oft noch Eiweißkörper mitgerissen, die an sich erst bei höheren Konzentrationen aus der Salzlösung ausfallen. Dies muß bei der Beurteilung der Versuche berücksichtigt werden.

Bei vergleichenden Untersuchungen am Pferde-Globulin, das durch Fällung mit 30 g Na_2SO_4 auf 100 cm^3 H_2O vom Serumalbumin abgetrennt wurde, ergab sich,

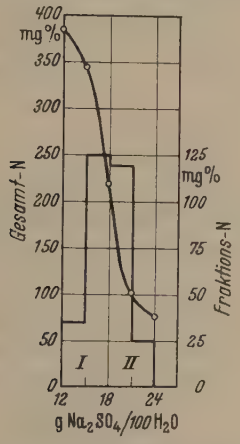


Abb. 8.

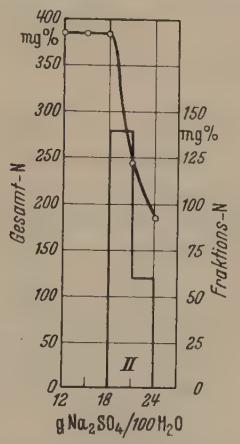


Abb. 9.

Abb. 8. Pferdeglobulin vor der Einwirkung von NaOCl (3 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N; Einwirkungszeit 3 Std 37°). 1,02 mg %.

Abb. 9. Pferdeglobulin nach der Einwirkung von NaOCl (3 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N; Einwirkungszeit 3 Std 37°). 72,2 mg %.

daß die am leichtesten fällbaren Globulinanteile, die etwa dem γ-Globulin aus elektrophoretischen Untersuchungen entsprachen, am stärksten angegriffen werden. Die Hypochloritmenge wurde hier auf das Verhältnis von 3 mg NaOCl zu 1 mg Protein-N erhöht, weil sich schon in den Voruntersuchungen gezeigt hatte, daß zur Spaltung der Peptidbindungen in den Globulinen mehr NaOCl benötigt wird als im Serumalbumin.

Untersuchungen an einem Pferdeglobulin, das bei 18 g Na_2SO_4 in 100 cm^3 H_2O vom übrigen Serum abgetrennt wurde, zeigten besonders deutlich, daß die Erhöhung des Rest-N fast ausschließlich auf die Spaltung von Peptidbindungen in dem am leichtesten fällbaren Globulinanteil zurückzuführen war. Eine solche Untersuchung ist in Abb. 8 u. 9 dargestellt.

Bei diesen Versuchen war bereits auffällig, daß der dem β-Globulin entsprechende Anteil kaum gespalten wird. Um zeigen zu können, daß dieser Globulinanteil am schlechtesten von Hypochlorit angegriffen wird.

wurde diese Fraktion nach Abtrennung des Albumins und der am leichtesten fällbaren Globulinanteile des Albumins gesondert untersucht. Hierbei wurde das Serumalbumin durch Fällung der Globuline bei 27 g Na_2SO_4 in 100 cm^3 H_2O entfernt, nachdem der dem γ-Globulin entsprechende Anteil bei einer Konzentration von 15 g des Neutralsalzes in 100 cm^3 H_2O ausgefällt wurde.

Die Gewinnung der Fraktion II war mit gewissen Schwierigkeiten verbunden, so daß nur geringe Mengen dieses Globulinanteiles aus dem Serum gewonnen werden konnten. Obwohl daher die benutzte Untersuchungsmethode nicht sehr empfindlich ist, läßt sich dennoch gut er-

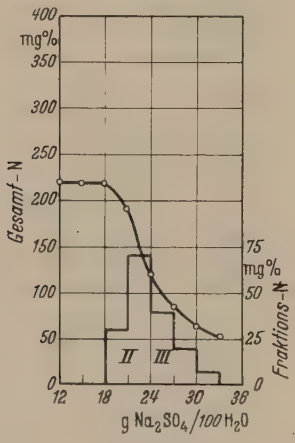


Abb. 10.

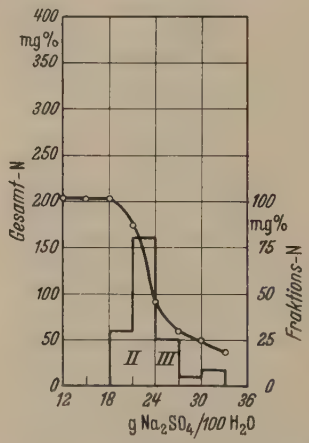


Abb. 11.

Abb. 10. Pferdeglobulin (Fraktion II) vor Einwirkung von Hypochlorit (3 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N; Einwirkungszeit 3 Std 37°). Rest-N 1,4 mg %.

Abb. 11. Pferdeglobulin (Fraktion II) nach Einwirkung von Hypochlorit (3 mg NaOCl auf 1 mg Protein-N; Einwirkungszeit 3 Std 37°). Rest-N 6,35 mg %.

kennen, daß die dem β-Globulin entsprechende Fraktion II nicht angegriffen wird. Erst die bei höheren Neutralsalzkonzentrationen ausfallenden Globuline zeigen eine geringe Abnahme, wie aus dem Vergleich mit der vor Einwirkung des Hypochlorits gewonnenen Kurve zu erkennen ist.

Es ist interessant, daß bereits enzymatische Untersuchungen vorliegen, nach denen Lipoide tragende Proteine sehr viel resistenter gegenüber der Einwirkung proteolytischer Fermente sind als reine Eiweißkörper. Nach Ansicht von F. TAYAU, G. M. BUFFE und J. BRETON[8], von denen diese Versuche stammen, schützen die Lipoide durch ihre Bindung bestimmte Serumproteinanteile vor der Spaltung durch proteolytische Fermente.

Diese Versuche sind auch für die Deutung früherer Versuchsergebnisse von Wichtigkeit. Bekanntlich ist bei dem ausgeprägten Krankheitsbild der echten Nephrose die β-Globulinfraktion besonders stark vermehrt. Dies ließ sich ja auch sehr deutlich durch Löslichkeitsbestimmungen der Proteine in Neutralsalzlösungen

feststellen[2]. Dabei sind die γ-Globuline in manchen Fällen außerordentlich vermindert. Unter solchen Bedingungen wird natürlich die Aufspaltung von Peptidbindungen im Gesamt-Globulinanteil relativ gering sein. Damit erfährt die schon früher gemachte Beobachtung[9] eine Aufklärung, daß die nach Einwirkung von Hypochlorit entstehende Menge CO_2 und gasförmigen Stickstoffes bei dem Globulin typischer Nephrosen außerordentlich gering ist. Dieser Befund wird demnach schon durch die qualitative Verschiebung der Globulinanteile hinreichend erklärt. Hierbei muß die Frage zunächst noch offen bleiben, ob innerhalb der einzelnen Fraktionen noch strukturelle Unterschiede bestehen. Bei dem Albuminanteil dieser Erkrankung ist das auf Grund der bisherigen Befunde mit großer Wahrscheinlichkeit der Fall. Ebenso sprechen die nach Einwirkung von NaOCl auf die Gesamtproteine von chronischen Ödemkranken erhaltenen Ergebnisse dafür, daß bei dieser Erkrankung strukturelle Abweichungen im Albumin- *und* Globulinanteil des Serums vorhanden sind. denn die fraktionierte Darstellung der Serumproteine ließ erkennen, daß bei dieser Frkrankung höchstens der dem γ-Globulin entsprechende Anteil vermehrt ist.

Zusammenfassung.

1. Löslichkeitsbestimmungen von Serumproteinen in Neutralsalzlösungen ansteigender Konzentration vor und nach Einwirkung von Hypochlorit ergaben, daß die einzelnen Eiweißkomponenten mit dem Oxydationsmittel nicht gleichmäßig reagieren. Das Serumalbumin wird am stärksten verändert.

2. Die Spaltung von Peptidbindungen durch Hypochlorit erfolgt bei strukturverschiedenen Albuminen mit wechselnder Geschwindigkeit; unter den Serumalbuminen wird das vom Pferd am schnellsten abgebaut.

3. Die Fraktionierung der Globulinanteile ergab eine verschiedene Resistenz der Peptidbindungen in den einzelnen Globulinkomponenten gegenüber Hypochlorit. Der dem γ-Globulin entsprechende Anteil wird besser gespalten als die dem β-Globulin entsprechende Fraktion. Durch die Versuche werden frühere Beobachtungen bestätigt, daß die Struktur der Proteine die Reaktionsgeschwindigkeit mit Hypochlorit wesentlich bestimmt.

Der Technischen Assistentin Ursula Schulz danken wir für ihre Hilfe bei den Versuchen.

Literatur.

[1] Herken, H., u. J. Schunk: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 302 (1949). - Z. f. Naturforschung **1949**, 19. — [2] Herken, H., u. J. Niewalda: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 394 (1950). — [3] Majoor, Yale: J. Biol. **18**, 419 (1946). — J. of biol. Chem. **1947**, 583. — [4] Vgl. M. Silbersiepe: Diss. Berlin 1949. — [5] J. clin. Invest. **23**, 437 (1944). — [6] Herken, H., u. J. Schunk: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 102 (1949). — [7] Herken, H.: Vortrag im Kaiser-Wilhelm-Institut f. Physikal. Chemie, Berlin-Dahlem, 24. 1. 1950. — [8] Bull. Soc. Chim. biol. Paris **29**, 671, 677, 780 (1947). — [9] Herken, H., u. J. Schunk: Z. f. d. ges. Inn. Med. **1948**, 729.

Prof. Dr. Hans Herken, Berlin-Dahlem, Thielallee 69/73.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 214—220 (1951).

Aus dem Physio-Pathologischen Laboratorium der Univ.-Nervenklinik Würzburg (Direktor: Professor Dr. J. Zutt).

Der Einfluß von Stoffwechsel- und Zellgiften sowie Biokatalysatoren auf die Farbstoffphagocytose in vitro.

Von

V. Köhler, R. Bauer und H. Müller.

(Eingegangen am 1. Juni 1950.)

Mudd u. Mitarb.[1] stellen die Phagozytose durch neutrophile Leukozyten als rein physiologisch-physikalischen Vorgang dar. Sie fanden dabei unter anderem wesentliche Änderung der Oberflächeneigenschaften der Phagozyten. Der Nachweis eines Stoffwechsels der Leukozyten macht aber die Teilnahme physiologisch-chemischer Prozesse wahrscheinlich. Die meist selektive Wirkung einiger Stoffwechselgifte soll über diese Frage Auskunft geben. Es kamen zur Prüfung in vitro Monojodessigsäure, Natriumfluorid, Kolchizin, Alloxan, Urethan und Lost,(Nitrogen-Mustard/Ciba). Ferner wurde die Wirkung von Magnesiumsulfat, Triphenyltetrazoliumchlorid und Methylenblau untersucht.

Methodik.

Bei den Versuchen wurde als System Blut, der Farbstoff Karmin und die obengenannten Substanzen verwendet. Die Substanzen wurden dem Blute zuerst und nach Herstellung der Verdünnungsreihen der Farbstoff Karmin (*M. Huber*, Farbenfabriken, München) in Menge von 5000 γ/cm^3 zugesetzt.

Die jeweiligen Gemische bestanden demnach stets aus 1 cm^3 mechanisch defibrinierten Blutes und den Substanzen in verschiedenen Konzentrationen, die bei Raumtemperatur von 20° C 30 min lang in einer Maschine mit 60 Arbeitsgängen in der Minute geschüttelt wurden. Daraufhin wurden von jeder Blutprobe Ausstriche angefertigt, nach May-Grünwald und Giemsa gefärbt, 100 Leukozyten ausgezählt und das Verhältnis der phagozytose-positiven zu den phagozytose-negativen Zellen bestimmt. Als phagozytose-positiv galt der Leukozyt, der mit Sicherheit Karmin aufgenommen hatte. Die Tabellen geben diese Werte in Prozenten wieder.

Ergebnisse und kurze Besprechung.

1. Der Einfluß der Monojodessigsäure auf die spontane Phagozytose.

Die neutrophilen Leukozyten vermögen Zucker aufzunehmen und zu synthetisieren. Bei dem sich anschließenden Abbau des Glykogens entsteht Milchsäure. Nach Lundsgaard u. a.[2] hemmt die Monojodessigsäure die Glykolyse. Hexosephosphorsäure wird infolge Beeinträchtigung der Triosephosphat-Dehydrierung angehäuft. Bei niedrigen Konzentrationen von Jodazetat wird die Glykolyse stets stärker als die Zellatmung geschädigt. Das Gewebe mit Jodazetat vergifteter Ratten

reagiert auf Terpentin nur mit geringer Abzeßsbildung[3]. Die Tab. 1 zeigt nun, daß Monojodessigsäure die Farbstoffphagozytose hemmt. Die Wirkung beginnt in 8 von 10 Versuchen bereits bei 5 γ/cm³ und erfährt mit Steigerung der Konzentration von 50 auf 500 γ/cm³ eine signifikante Intensivierung. n/200 Essigsäure ist indifferent.

Tabelle 1.

Nr.	0 γ/cm³	5 γ/cm³	50 γ/cm³	500 γ/cm³
1	60	58	49	19
2	58	53	37	14
3	78	78	45	16
4	94	96	78	12
5	38	30	24	12
6	95	80	71	0
7	70	65	66	7
8	73	67	20	2
9	14	12	9	2
10	31	30	21	5

2. Der Einfluß des Natriumfluorids auf die spontane Phagozytose.

Natriumfluorid behindert die Abspaltung von Phosphorsäure aus den beiden phosphorylierten Dismutationsprodukten. Die blockierte Dephosphorylierung unterbricht die Milchsäurebildung. Tab. 2 demonstriert den Effekt des Natriumfluorids in den Konzentrationen von 5, 50, 500 γ/cm³ auf die Farbstoffphagozytose. Sie nimmt unter ihrer Wirkung graduell ab.

Tabelle 2.

Nr.	0 γ/cm³	5 γ/cm³	50 γ/cm³	500 γ/cm³
1	60	51	42	15
2	58	50	32	15
3	78	68	40	21
4	94	—	90	14
5	38	40	38	10
6	40	31	24	12
7	14	6	4	3
8	71	60	38	21
9	94	92	84	59
10	88	82	45	19
11	90	92	70	21
12	73	69	60	10
13	99	90	62	23
14	97	98	84	58
15	84	80	62	30

3. Der Einfluß des Kolchizin auf die spontane Phagozytose.

Kolchizin stört die Kernmitose. Schoetensack[4] beschrieb die Inaktivierung der sauren Phosphatase der Erythrozyten. Demnach scheint

es auch ein Fermentgift zu sein. Tab. 3 gibt über die graduelle Hemmung der Farbstoffphagozytose durch Kolchizin Aufschluß.

Tabelle 3.

Nr.	0 γ/cm³	5 γ/cm³	50 γ/cm³	500 γ/cm³
1	60	55	50	17
2	58	57	43	20
3	78	71	53	22
4	94	94	76	60
5	38	32	30	14
6	71	67	49	30
7	98	91	88	76

4. Der Einfluß des Alloxan auf die spontane Phagozytose.

Alloxan, zur Erzeugung eines Pankreas-Diabetes durch Schädigung der β-Zellen geeignet, ist nach Burgen u. Lorch[5] ein Stoff mit zytostatischen Eigenschaften. Die Nierenphosphatase wird gehemmt. Tab. 4 veranschaulicht die Wirkung des Alloxan auf die Farbstoffphagozytose in den Konzentrationen 5, 50, 500 γ/cm³. Es setzt die Funktion der Mikrophagen besonders bei hohen Konzentrationen wesentlich herab. Offenbar wirkt Alloxan auf das Protoplasma. Die Fähigkeit zur Phagozytose ist in erster Linie eine Funktion des Protoplasmas.

Tabelle 4.

Nr.	0 γ/cm³	5 γ/cm³	50 γ/cm³	500 γ/cm³
1	60	45	38	24
2	58	55	40	18
3	78	69	51	25
4	94	94	90	48
5	68	29	25	14
6	71	62	47	24
7	40	37	28	15
8	73	72	55	28
9	33	31	25	15
10	55	52	47	31
11	61	60	49	34
12	37	29	17	11

5. Der Einfluß des Urethans auf die spontane Phagozytose.

Urethan schädigt Kern und Protoplasma der Zelle. Es beseitigt die leukämische Leukozytenvermehrung und schränkt die Abszeßbildung ein[7]. Eine Hemmung von Fermenten durch Urethan wiesen Keilin u. Hartree[6] nach. Schoetensack[4] stellte die Inaktivierung der Erythrozytenphosphatasen fest. Nach Tab. 5 nimmt die Farbstoffphagozytose unter den angewandten Konzentrationen von Urethan entsprechend ab. Die Ergebnisse von Masshoff u. Mitarb.[7] werden hiermit bestätigt.

Tabelle 5.

Nr.	0 γ/cm³	5 γ/cm³	50 γ/cm³	500 γ/cm³
1	60	54	45	34
2	58	56	45	29
3	78	75	52	38
4	94	94	76	56
5	38	32	26	22
6	48	52	50	38
7	74	72	50	39
8	99	99	78	47
9	51	46	32	11
10	15	14	13	4
11	31	30	24	14

6. Der Einfluß des Lost auf die spontane Phagozytose.

Lost gilt als Ruhekerngift mit höherer Toxizität als Urethan. Es bewirkt Leukopenie, Abnahme der Retikulozyten und Blutplättchen. Vermutlich blockiert es bestimmte Zellfermente. Nach unseren Untersuchungen in Tab. 6 vermindert es die Zahl der phagozytose-positiven Leukozyten wie Urethan in Konzentration von 5, 50, 500 γ/cm³.

Tabelle 6.

Nr.	0 γ/cm³	5 γ/cm³	50 γ/cm³	500 γ/cm³
1	38	34	30	14
2	38	38	30	18
3	64	61	52	11
4	47	47	36	7
5	28	29	18	4

7. Der Einfluß des Magnesium-Ions auf die spontane Phagozytose.

Magnesiumsulfat aktiviert die alkalischen Phosphatasen im Bereich von p_H 9—10. In der Annahme, daß diese Wirkung das Phagozytosevermögen der neutrophilen Leukozyten ändert, wurden entsprechende Versuche angestellt, deren Ergebnisse Tab. 7 zusammenfaßt. Magnesiumsalz steigert regelmäßig die Phagozytose bereits bei einer Konzentration von 5 γ/cm³.

Tabelle 7.

Nr.	0 γ/cm³	1 γ/cm³	5 γ/cm³	10 γ/cm³	50 γ/cm³	100 γ/cm³	500 γ/cm³	1000 γ/cm³	5000 γ/cm³
1	14	15	20	27	31	34	35	48	66
2	30	45	50	56	59	61	64	66	—
3	58	60	60	65	67	69	77	81	88
4	37	41	46	52	62	66	74	88	95
5	3	—	—	43	54	60	82	91	90
6	48	—	52	—	84	—	84	—	—

8. Der Einfluß des Methylenblau auf die spontane Phagozytose.

Barron[8] fand bei Untersuchungen an Blutzellen eine Verstärkung des glykolytischen und oxydativen Stoffwechsels durch Methylenblau. Die leukozytäre Phagozytose geht sowohl *mit* als auch *ohne* Sauerstoff vor sich. In Tab. 8 ist sein Einfluß auf die Farbstoffphagozytose dargestellt. Danach regt Methylenblau in Konzentrationen zwischen 5 und 5000 γ/cm³ die neutrophilen Leukozyten stark zur Phagozytose an.

Tabelle 8.

Nr.	0 γ/cm³	1 γ/cm³	5 γ/cm³	10 γ/cm³	50 γ/cm³	100 γ/cm³	500 γ/cm³	1000 γ/cm³	5000 γ/cm³
1	37	40	45	50	58	55	70	80	88
2	40	44	51	58	63	61	65	81	95
3	5	5	4	4	6	4	5	6	66
4	38	38	48	50	68	55	71	78	88
5	30	32	33	35	46	38	55	63	92
6	36	44	47	50	59	55	64	75	97
7	58	59	57	59	64	61	71	79	95
8	40	40	48	50	67	70	75	80	91
9	24	29	35	40	51	55	70	79	89
10	30	32	42	45	50	59	62	75	83
11	39	44	55	50	60	65	75	80	93

9. Der Einfluß des Triphenyltetrazoliumchlorid auf die spontane Phagozytose.

Nach R. Kuhn[9] ist Triphenyltetrazoliumchlorid ein biologischer Redox-Indikator. Seine Salze sind wasserlöslich und farblos. Zinkstaub, Schwefelammonium, lebende pflanzliche und tierische Zellen reduzieren es zu wasserunlöslichem tiefrotem Formazan, das kristallisch ausfällt. Triphenyltetrazoliumchlorid ist sauerstoffunempfindlich, sein Potential negativer als das des Methylenblau. In *vivo* erweist es sich als Gift für

Tabelle 9.

Nr.	0 γ/cm³	1 γ/cm³	5 γ/cm³	10 γ/cm³	50 γ/cm³	100 γ/cm³	500 γ/cm³	1000 γ/cm³	5000 γ/cm³
1	14	13	13	16	20	27	32	38	80
2	38	38	38	38	54	58	60	60	80
3	24	27	34	40	44	48	56	69	79
4	3	—	2	29	46	54	66	75	79
5	42	42	41	41	53	60	66	69	80
6	70	68	70	69	77	78	80	88	87
7	36	42	44	50	55	63	73	79	94
8	5	4	5	4	6	5	6	9	49
9	36	42	44	59	55	63	73	79	94
10	14	—	—	16	17	18	24	56	—
11	31	30	32	39	42	50	54	59	61
12	37	—	38	—	56	—	70	—	70
13	29	33	37	40	39	47	54	65	64
14	41	38	42	40	42	50	58	60	71
15	94	—	—	96	94	96	94	96	96

Protoplasma und Fermente, insbesondere für das Dehydrasen-System. Die in *vitro* beobachtete Phagozytose erfährt nach Tab. 9 durch Triphenyltetrazoliumchlorid in den Konzentrationen von 5—5000 γ/cm^3 eine Steigerung. In vivo wirkt es entgegengesetzt. Die subkutane Verabreichung von 1,25 mg pro die bedingte bei jungen Ratten mit 50 g Körpergewicht innerhalb 4 Tagen eine Hemmung der Phagozytose um etwa 60% des durchschnittlichen Normalwertes. Sie tritt auch bei tödlicher Vergiftung mit Triphenyltetrazoliumchlorid (25 mg/kg i. v.) auf.

Kurze Besprechung der Ergebnisse.

Die Untersuchungen über die Farbstoffphagozytose in vitro mit Stoffwechsel- und Zellgiften sowie Biokatalysatoren ergeben eine Hemmung der Phagozytose durch Monojodessigsäure, Natriumfluorid, Kolchizin, Alloxan, Urethan und Lost einerseits, andererseits eine Förderung durch Magnesiumsulfat, Methylenblau und Triphenyltetrazoliumchlorid. Die Wirkung des Jodazetats und Natriumfluorids auf die Glykolyse legen nahe, der Milchsäurebildung eine Bedeutung für diese biologische Funktion der neutrophilen Leukozyten beizumessen. Einflüsse auf Redoxsysteme sind ebenfalls möglich. Der Effekt des Triphenyltetrazoliumchlorids darf vielleicht in gleicher Weise gedeutet werden. — Methylenblau verstärkt die Glykolyse. So ist zu erwägen, ob nicht diese positive Korrelation des Methylenblau zur Glykolyse die Steigerung der Phagozytose verursacht.

Die Toxizität von Kolchizin, Alloxan, Urethan und Lost auf die Phagozytose kann mit ihrer festgestellten Fermenthemmung in Zusammenhang gebracht werden. Der Leukozyt ist reich an Fermenten, insbesondere an Phosphatasen. Sie sind für seinen Kohlenhydrat-Stoffwechsel wichtig. Die Steigerung der Phagozytose durch das Magnesium-Ion als Aktivator der alkalischen Phosphatasen macht derartige Zusammenhänge wahrscheinlich.

Die mitgeteilten Ergebnisse berechtigen, Stoffwechselprozesse im Leukozyten während der Phagozytose anzunehmen. Sie kennzeichnen den Vorgang als Arbeitsleistung und stellen den Kohlenhydrat-Stoffwechsel als Energeticum in den Vordergrund. Die chemisch-physiologischen Reaktionen gehen zweifellos mit Änderung der Oberflächeneigenschaften des Leukozyten einher. Letzten Endes führen sie nach abgeschlossener Phagozytose zum Zerfall des Phagozyten, der allem Anschein nach eintritt, wenn der Kohlenhydrat-Stoffwechsel als Faktor der Strukturbewahrung[10] sich erschöpft hat.

Zusammenfassung.

Die in vitro mit den Stoffwechsel- bzw. Zellgiften sowie Biokatalysatoren durchgeführten Untersuchungen über die Farbstoffphagozytose

der neutrophilen Leukozyten weisen darauf hin, daß chemisch-physiologische Prozesse an der Phagozytose teilnehmen. Demnach scheint der Vorgang auf einer Änderung sowohl der Oberflächeneigenschaften als auch des Stoffwechsels der Leukozyten zu beruhen.

Literatur.

[1] Mudd u. Mitarb.: Physiologic. Rev. **14**, 2104 (1934). — [2] Lundsgaard: Biochem. Z. **217**, 162 (1930); **220**, 1, 8 (1930); **250**, 61 (1932). — [3] Köhler, Scharf u. Bauer: Endocrinologie, (im Druck). — [4] Schoetensack: Die Naturwissenschaften **9**, 285 (1948). — [5] Burgen u. Lorch: Biochem. Z. **41**, 223 (1947). — Keilin u. Hartree: Proc. roy. Soc. Lond. **127**, 167 (1939). — [7] Masshoff, W., W. Heinzel, D. G. v. Rom, u. G. Siess: Klin. Wschr. **25/26**, 397 (1948). — [8] Barron, E. S. G., u. G. A. Harrop: J. of biol. Chem. **79**, 65 (1928). — [9] Kuhn, R.: Literatur bei Jürgen-Meyer-Arendt: Klin. Wschr. **35/36**, 608 (1949). — [10] Riesser: Helvet. Med. Acta **9**, 6 (1942).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 221—229 (1951).

Aus dem physiologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

Die Beeinflussung der Veratrinkontraktion durch Atropin, Azetylcholin, Physostigmin und Prostigmin.

Von

MARIANNE GRUPP.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juli 1950.)

Die eigentliche Ursache der Wirkung des Veratrins auf den quergestreiften Muskel ist noch nicht geklärt.

Schon G. LAMM[7] wies auf die Tatsache hin, daß die Veratrinkontraktion nicht spontan auftritt, sondern daß sie erst im Anschluß an die Initialzuckung des Muskels in Form einer mehr oder weniger hohen Kontraktion sichtbar wird. Eigenartig ist weiterhin, daß diese Nachkontraktion durch mehrmaliges Reizen des Muskels im Abstand von nur wenigen Sekunden sich verringert und sogar völlig verschwindet, wobei dann der Muskel auf jeden kurz darauf folgenden Reiz nur mit der unveränderten Initialzuckung reagiert.

In der Arbeit von O. KRAYER[6] „The pharmakology of the veratrine alkaloids" sind die wichtigsten Theorien und Ergebnisse der bisherigen Veratrinforschung enthalten.

G. LAMM[7] vermutete, daß die Veratrinwirkung durch chemische Bindung eines Stoffwechselproduktes des tätigen Muskels mit dem Veratrin zustande käme. Diese Annahme ergab sich aus der Verminderung der Veratrinwirkung durch alle den Stoffwechsel des Muskels herabsetzenden Einflüsse, niedere Temperatur und zu schwache Erregung.

BACQ und GOFFERT[1] erkannten die wichtige Rolle des Kaliums bei der Veratrinkontraktion und führten die Veratrinwirkung am Muskel auf eine Veränderung des Verhältnisses $\frac{K \; Na}{Ca \; Mg}$ zurück.

SZENT-GYÖRGYI, BACQ und GOFFERT[12] stellten mit Durchströmungsversuchen an Fröschen fest, daß es eine humorale Übertragung der Veratrinwirkung gebe. Azetylcholin schlossen sie als Ursache der Reizübertragung aus, da das Experiment auch nach Kurarisierung der Frösche gelang, und da sie den Ausgangspunkt der Veratrinwirkung in der Nervenendplatte vermuteten.

Auch Versuche von FREY und WEIGMANN[4] ließen keine Veränderung der Veratrinwirkung durch Azetylcholin erkennen.

Dagegen wurde eine Hemmung der Veratrinwirkung durch Atropin von LÖWI und SOLTI[8] festgestellt. Diesen Befund konnten jedoch FREY und WEIGMANN[4] nur in geringem Maße bestätigen. Sie benutzten das Atropin in sehr hohen Dosen (50 mg%, 100 mg%), die eine starke Muskelschädigung zur Folge hatten.

Die Wirkung des Physostigmins auf das Veratrin wurde von MIYAKE [Jap. J. med. Sci. III Biophysics **6**, 45 (1940), zit. nach O. KRAYER[6]] untersucht. Er fand eine Hemmung der Veratrinkontraktion, während FREY und WEIGMANN[4] keine Beeinflussung der Veratrinwirkung durch Physostigmin beobachten konnten.

Da die pharmakologische Wirkung von Atropin, Azetylcholin und Physostigmin in engem Zusammenhang steht, lag es nahe, zur Klärung dieser unterschiedlichen

Ergebnisse die Wirkung dieser Stoffe auf das Veratrin mit einer einzigen Methode zu untersuchen.

Der Vorteil der Lammschen Methode besteht nun darin, daß der Muskel hier für die Dauer des Versuches in ein und derselben mit Veratrin versetzten physiologischen Lösung verbleibt, und man auf diese Weise imstande ist, die ganze Entwicklung und Dauer der Veratrinwirkung zu übersehen. (Es sei hiermit auf die sehr schönen Ergebnisse und Kurven der Lammschen Arbeit hingewiesen.)

Methodik und Ergebnisse.

Zu allen Versuchen verwendete ich die Musculi sartorii von Esculenten, die ich über Nacht im Eisschrank in Tyrodelösung aufbewahrte.

Die Muskeln wurden in der von G. Lamm genauestens beschriebenen Weise in 25 cm^3 Tyrodelösung suspendiert: Das distale Ende des Muskels wird an einer Platinöse, die sich an einem gebogenen Glasröhrchen befindet, befestigt und hat

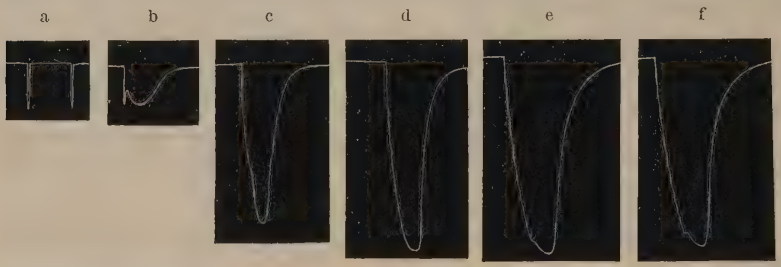


Abb. 1. Froschsartorius in Tyrodelösung, der 2 γ Veratrinum hydrochloricum zugesetzt wird. a) normale Zuckung vor Zugabe des Veratrins, b) 30 min, c) 1 Std, d) 3 Std, e) $6^3/_4$ Std, f) 9 Std nach Zugabe des Veratrins.

über Quecksilber und einen Kupferdraht mit dem Schlitteninduktorium Kontakt. Von dem oberen proximalen Ende des Sartorius wird ein sehr feiner Kupfer- oder Platindraht (0,05 mm Durchmesser) abgeleitet, und mit Hilfe eines Fadens wird der Muskel in der Mitte eines mit 100 g belasteten Schreibhebels befestigt, so daß er unter einer Spannung von etwa 5 g steht. Der Schreibhebel überträgt die Kontraktionsbewegungen des Muskels auf ein Kymographion. Nach Bestimmung der Reizschwelle und des Maximalreizes mit Hilfe des Schlitteninduktoriums wird der Tyrodelösung Veratrin beigegeben. In Abständen von 15 oder 30 min wird der Muskel mit Öffnungsschlägen gereizt.

Das von mir für alle Versuche verwendete Veratrinpräparat, dessen Herkunft in der Apotheke leider nicht festzustellen ist, besitzt eine hohe Toxizität. Die brauchbaren Dosierungen dieses Präparates liegen weit unter den von anderen Autoren angegebenen Veratrinmengen (Lamm[7], Löwi[8]). Krayer[6] weist auf die verschiedene biologische Wirksamkeit der einzelnen Alkaloide des Veratrins hin. (Es werden bisher 13 Alkaloide des Veratrins chemisch unterschieden.)

Die quantitativen Unterschiede der Wirkung des Veratrins in Dosen von wenigen Millionstel Gramm (γ) sind ganz erheblich. Während bei der Gabe von $^1/_2\,\gamma$ Veratrin maximal eine kleine Nachkontraktion zu beobachten ist, die etwa nur $^1/_{10}$ der Initialzuckung ausmacht, haben 4 γ Veratrin eine so starke Wirkung, daß schon 15 min nach Zugabe des Präparates die Veratrinkontraktion die primäre Zuckung übersteigt und

sich anschließend eine sehr breite und hohe Kurvenform entwickelt, die über mehrere Tage hin in diesem Ausmaße bestehen bleibt.

Die brauchbarste Dosierung ist 1 oder 2 γ. Bei Anwendung dieser Menge zeigt sich — mit gewissen biologischen Schwankungen — stets etwa folgendes Bild (Abb. 1).

Versuch mit 2 γ Veratrin: Bei der ersten Kontraktion, 15 min nach Zugabe des Veratrins, ist ein geringer, kaum sichtbarer Verkürzungsrückstand zu beobachten, der die beginnende Wirkung des Veratrins anzeigt. Nach 30 min ist eine ausgeprägte Nachkontraktion zu erkennen, die dieselbe Höhe wie die primäre Zuckung erreicht. Und schon beim nächsten Reiz, eine halbe Stunde später, antwortet der Muskel mit einer etwa 3—4mal so großen Kontraktion, die keine Trennung zwischen Initialreiz und Nachkontraktion mehr erkennen läßt. Zumeist entwickelt sich hier eine Kurvenform, die nicht die relativ niedere Initialzuckung und den Übergang zu einer höheren Nachkontraktion mehr erkennen läßt, sondern zu Beginn der Aktion steht eine hohe, steile Kontraktion weit über das Maß der Initialzuckung hinausgehend und diese in sich enthaltend — und auf dem absteigenden Ast der Kurve schließt sich eine kleinere Nachkontraktion an.

Die Wirkung des Veratrins hält über 24 Std an. Bei Nachlassen der Giftwirkung des Veratrins tritt dann wieder die zweigeteilte Kurvenform auf.

Der Muskel braucht zu seiner Erholung nach einem Reiz mindestens 15 min. Es ist unzweckmäßig, häufiger zu reizen, wenn man vergleichbare Kurven erhalten will.

Die dauernde Sauerstoffdurchperlung der Tyrodelösung fördert die Entwicklung der Veratrinwirkung und verlängert die Dauer der Reizbarkeit des Muskels.

Die Versuche wurden im Sommer bei Zimmertemperatur ausgeführt. Schon geringe Abkühlung auf 16 oder 17° verzögerten den Beginn der Veratrinwirkung um mehrere Stunden (siehe Lamm[7]). Bei den Versuchen, die sich bis in die spätere Jahreszeit hin erstreckten, beobachtete ich im Laufe des Monats Oktober eine zunehmende Verminderung der Veratrinempfindlichkeit der Frösche. Ich mußte, um denselben Veratrineffekt hervorzurufen, die doppelte Menge Veratrin geben (also 4 γ statt 2 γ). Dies entspricht genau den Befunden von Lamm[7].

Versuche mit *Azetylcholin*.

Zu der mit 2 γ Veratrin versetzten Tyrodelösung eines Muskels gab ich nach 1½ Std 1 γ Azetylcholin hinzu, nachdem der Muskel schon mit einer ausgeprägten Nachkontraktion auf das Veratrin angesprochen hatte. 30 min später reagierte der Muskel mit einer eigenartigen hohen Kontraktion, aus der er sich durch mehrere kleine und steile Nachkontraktionen löste. Die folgenden Untersuchungen ergaben jedoch das übliche Bild einer ungestörten Entwicklung der Veratrinwirkung. Das Maximum war nach 6 Std erreicht.

Gibt man Azetylcholin erst in der 7. Std, also in der Zeit der maximalen Veratrinwirkung, so sieht man keinerlei Veränderung in dem Ablauf der Muskelkontraktionen. Die Kurven sind von den anderen Veratrinkurven ohne Azetylcholin nicht zu unterscheiden.

Auch dazwischenliegende Dosierungen von 100 γ und 200 γ, mehrmals etwa 1 min vor dem Reiz appliziert, hatten keinen Einfluß auf die Veratrinkontraktion.

Versuche mit *Physostigmin*.

Das Physostigmin zeigte sich in allen Versuchen als ein die Wirkung des Veratrins hemmender Stoff (Abb. 2).

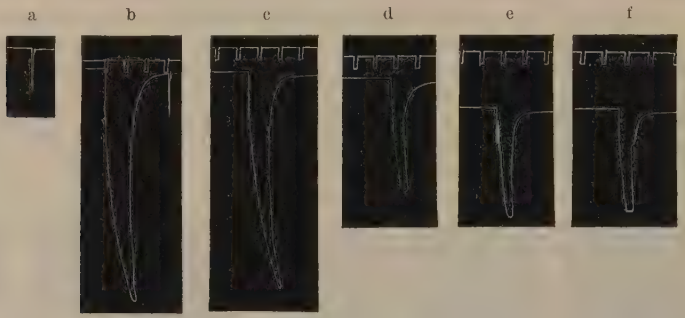


Abb. 2. Froschsartorius in Tyrodelösung, der 1 γ Veratrin und 6¾ Std später 1 mg Physostigmin zugesetzt werden. a) normale Zuckung vor Zugabe des Veratrins, b) 6¼ Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin, c) 6¾ Std nach Zugabe von Veratrin, ½ Std nach Zugabe von 1 mg Physostigmin, d) 7½ Std nach Zugabe von Veratrin, 1¼ Std nach Zugabe von 1 mg Physostigmin, e) 9 Std nach Zugabe von Veratrin, 2¾ Std nach Zugabe von 1 mg Physostigmin, f) 9½ Std nach Zugabe von Veratrin, 3¼ Std nach Zugabe von 1 mg Physostigmin, Zeitmarkierung 1,4 sec.

In geringen Dosierungen (50—100 γ) der Tyrodelösung zugesetzt, vermindert es die Höhe der Veratrinkontraktion. Dies wird deutlich, wenn es zur Zeit der maximalen Veratrinwirkung, also in der 6. oder

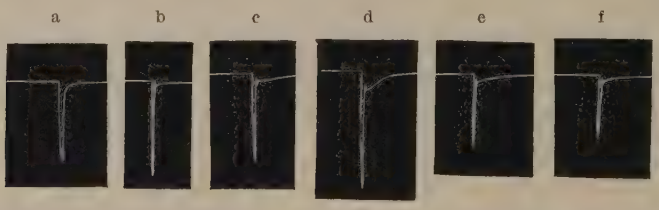


Abb. 3. Froschsartorius in Tyrodelösung, der gleichzeitig 2 γ Veratrin und ⅛ mg Physostigmin zugesetzt werden. a) normale Zuckung vor Zusatz der Stoffe, b) 3 Std, c) 6 Std, d) 7 Std, e) 8½ Std, f) 10 Std nach Zugabe von Veratrin und Physostigmin.

7. Std des Versuches gegeben wird. 30 min nach Zusatz des Physostigmins wird die Kontraktion des Muskels niedriger. Dieser Effekt kommt bei den nächsten Reizungen deutlicher zum Vorschein und klingt dann langsam wieder ab. Erhöht man die Dosis des Physostigmins auf 1 mg, so zeigt sich ein ganz rapider Abfall der Veratrinkontraktion. 1 Std nach Zusatz des Medikamentes beträgt die Höhe der Kontraktion nur noch die Hälfte der maximalen Veratrinkontraktion (Abb. 3).

Bei gleichzeitigem Zusatz von Veratrin und Physostigmin zu der Tyrodelösung kam eine Veratrinkontraktion überhaupt nicht zum Vor-

schein. Während bei dem Kontrollversuch — der Sartorius des anderen Beines desselben Frosches — eine normale Entwicklung der Veratrinwirkung registriert wurde, reagierte der Muskel in der anderen Lösung mit Zusatz von ½ oder 1 mg Physostigmin auf die elektrischen Reize stets mit gleichbleibenden, schnellen, nur in manchen Fällen etwas niedrigeren Kontraktionen wie vor Beginn des Versuches. Erst bei Zusatz von nur $^1/_8$ mg Physostigmin war einmalig nach 7 Std eine kleine charakteristische Veratrinkontraktion zu erkennen.

Versuche mit *Prostigmin.*

Nach Zusatz von Prostigmin zu den mit Veratrin vergifteten Tyrodelösungen konnte ich keine Änderung in der Entwicklung und in dem Verlauf der Veratrinkontraktion der Muskeln beobachten. Ich verwendete Prostigmin in verschiedensten Dosen zwischen wenigen γ und 250 γ. Unabhängig vom Zeitpunkt der Applikation war keine Beeinflussung der Veratrinwirkung zu erkennen.

Versuche mit *Atropin.*

Die Zugabe von Atropin zu der mit Veratrin versetzten Tyrodelösung hat regelmäßig eine Abschwächung der Veratrinwirkung zur Folge (Abb. 4). Zunächst wird eine Verschmälerung der Kontraktionskurve sichtbar. d. h. der Muskel kehrt nach der Kontraktion schneller in seine Ruhelage zurück. Der Gipfel der Kurve ist nicht mehr abgerundet, sondern zeigt eine auffallend spitze Form. Etwa 1½—2 Std nach Zugabe von Atropin ist auch eine ganz deutliche Verminderung der Kontraktionshöhe zu erkennen (Versuche mit 50 γ, 100 γ, 1 mg).

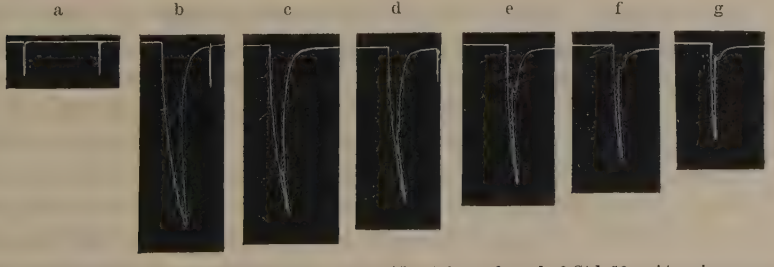


Abb. 4. Froschsartorius in Tyrodelösung, der 1 γ Veratrin und nach 6 Std 50 γ Atropin zugesetzt werden. a) normale Zuckung vor Zugabe des Veratrins, b) 6 Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin, c) 6½ Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin, ½ Std nach Zugabe von 50 γ Atropin, d) 6¾ Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin; ¾ Std nach Zugabe von 50 γ Atropin, e) 7¼ Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin, 1¼ Std nach Zugabe von 50 γ Atropin. f) 8 Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin, 2 Std nach Zugabe von 50 γ Atropin, g) 9 Std nach Zugabe von 1 γ Veratrin, 3 Std nach Zugabe von 50 γ Atropin.

Gibt man das Atropin gleichzeitig mit dem Veratrin in die Tyrodelösung, so wird bei Anwendung größerer Dosen die Entwicklung einer Veratrin-Nachkontraktion von Anfang an unterbunden.

Ausschnitte aus einem Versuch mit 500 γ Atropin, gleichzeitig 2 γ Veratrin zeigen die unveränderte Reaktion des Muskels auf die Öffnungsschläge vor und nach Applikation der Stoffe, ähnlich wie Abb. 3.

Gibt man nur 100 γ Atropin, so erkennt man nach 3 Std im Anschluß an eine Kontraktion einen kleinen Verkürzungsrückstand, der bei den nächsten Untersuchungen als kleine, aber sehr deutliche Veratrin-Nachkontraktion imponiert.

Bei der Gabe von nur 50 γ Atropin kommt die Veratrinwirkung deutlicher zum Vorschein: nach 5½ Std verbreitert sich die Kurve, der Einfluß des Veratrins wird deutlich sichtbar an der Ausbildung der Nachkontraktion. Aber nie wird die Veratrinwirkung so stark, daß die Initialzuckung von der Nachkontraktion übertroffen würde. Die sehr starke Wirkung des Atropins wird deutlich, wenn man die beiden Vergleichskurven (die beiden Sartorii desselben Frosches mit und ohne Atropin) nebeneinander betrachtet.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche zeigen eindeutig, daß das Azetylcholin die Veratrinkontraktion nicht beeinflußt. Es kommt zwar nach Zugabe des Azetylcholins zu der Tyrodelösung manchmal zu einer kurzen Phase der Übererregbarkeit des Muskels, die eigentliche Veratrinwirkung bleibt dagegen unverändert.

Übereinstimmend mit den bisherigen Ergebnissen läßt sich nach diesen Versuchen aussagen, daß die Veratrinkontraktion nicht mit einer Bildung von Azetylcholin verbunden ist (siehe auch BONNET[2]).

Im Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse der Versuche mit Atropin und Physostigmin. Beide hemmen die Veratrinwirkung.

Schon bei der Anwendung von 50 γ *Atropin* (LÖWI u. SOLTI[8] verwendeten wesentlich höhere Dosen: 2 mg und mehr in nur 12 cm³ Flüssigkeit) erhält man eine ganz deutliche Veränderung der durch das Veratrin hervorgerufenen Kontraktionskurve. Übereinstimmend mit den Ergebnissen von LÖWI u. SOLTI ist immer wieder das für die Atropinwirkung charakteristische Spitzerwerden der Kurven auffallend. Zunächst bewirkt also das Atropin eine schnellere Erschlaffung des Muskels bei den Kontraktionen, dann erst kommt es zu einer Verringerung der Kontraktionshöhe. Diese Besonderheit kommt alleine dem Atropin zu, nicht dem Physostigmin.

Auch die veratrinhemmende Wirkung des *Physostigmins* ist schon bei einer Dosierung von 50 γ zu beobachten (in 25 cm³ Tyrodelösung entspricht dieses einem Mengenverhältnis von 1 : 500000). Bei höherer Dosierung wird die Verkürzung der Kontraktionen entsprechend deutlicher sichtbar.

Besonders auffallend ist die veratrinhemmende Wirkung des Physostigmins bei gleichzeitiger Anwendung mit Veratrin. Hier machen schon relativ geringe Dosen (vgl. Versuch mit ½ mg Physostigmin) die Entwicklung einer Veratrinkontraktion unmöglich, bzw. erst nach Zerstörung des Physostigmins in dem leicht alkalischen Milieu der Tyrodelösung kommt die Veratrinwirkung zum Vorschein.

Daß Frey und Weigmann[4] keine Beeinflussung der Veratrinwirkung durch Physostigmin beobachten konnten, mag an der Verschiedenheit der Methoden und an der anderen Dosierung liegen. Sie benutzten Physostigmin in Dosen von 1 mg% bis 40 mg% und sahen dabei aber auch eine Verminderung der Zuckung normaler, nicht veratrinisierter Muskeln.

Harnack und Witkowsky[5] stellten fest, daß größere Dosen Physostigmin, etwa 0,02 g, eine lähmende Wirkung auf die quergestreifte Muskulatur haben, während geringere Mengen, etwa 1,5 mg, eine erhöhte Erregbarkeit der Muskeln bewirken. Diese erhöhte Erregbarkeit der Muskeln sahen sie auch nach Kurarisieren der Frösche und vermuteten daher eine direkte Wirkung des Physostigmins auf den Muskel.

Das *Prostigmin*, ein synthetischer Stoff, der in der Therapie der Myasthenia gravis wegen seiner ausgezeichneten Wirkung an Stelle des Physostigmins Verwendung findet, zeigt bei diesen Versuchen keine dem Physostigmin entsprechende Wirkung. Da die therapeutische Dosis des Prostigmins etwa doppelt so hoch wie die des Physostigmins ist, könnten wir eine veratrinhemmende Wirkung des Prostigmins von etwa 100 γ ab erwarten. Keine der hier angewandten Konzentrationen des Prostigmins vermag jedoch die Veratrinkontraktion irgendwie zu beeinflussen.

Fassen wir diese Ergebnisse zusammen, so finden wir also statt des zu erwartenden Antagonismus zwischen Physostigmin und Atropin eine gleichartige Wirkung dieser beiden Stoffe. Das Azetylcholin dagegen ist unwirksam, und das Prostigmin hat keine dem Physostigmin ähnliche Wirkung. Dies läßt darauf schließen, daß diese Stoffe hier nicht in ihren bekannten (parasympathischen) Eigenschaften wirksam sind, sondern daß eine ganz andere — vielleicht rein physikalische — Wirkungskomponente entscheidend ist.

Bei den Versuchen mit Atropin und Physostigmin fällt besonders auf, daß die Veratrinwirkung, wenn sie sich erst einmal entfaltet hat, von diesen Stoffen nicht mehr in demselben Maße gehemmt wird, wie wenn man sie gleichzeitig mit dem Veratrin an den Muskel heranbringt. Dies spricht dafür, daß das Veratrin an der Muskelfaser selbst angreift und hier eine Veränderung schafft, die durch das Hinzutreten eines anders wirkenden Stoffes wohl abgeschwächt, aber nicht rückgängig gemacht werden kann. Auch scheint die hemmende Wirkung des Atropins und des Physostigmins nicht im engeren Sinne spezifisch gegenüber dem Veratrin zu sein. Es wird durch sie wohl die Veratrinkontraktion in ihrer bestehenden Form vermindert, es wird aber nicht der Zustand einer

schwächeren Veratrinvergiftung, der sich durch die zweigipfelige Form der Veratrinkurve auszeichnet, herbeigeführt.

Zur Erklärung der Wirkung des Atropins läßt sich die in letzter Zeit häufiger diskutierte Frage der Permeabilitätsänderung anführen. Schon LÖWI u. SOLTI[8] wiesen darauf hin, daß die Wirkung des Atropins auf die quergestreifte Muskulatur darauf beruhe, daß es die Durchlässigkeit der Zellmembranen verringere. Es ist bekannt, daß die Veratrinkontraktion besonders durch diejenigen Stoffe vermindert wird, die eine membrandichtende Wirkung haben, z. B. Ca, Lokalanaesthetika (SCHÜLLER u. ATHMER[11], RIESSER[9]). — Inwieweit eine Erklärung der veratrinhemmenden Wirkung des Physostigmins auf diesem Wege erfolgen könnte, muß dahingestellt bleiben. — Umgekehrt sollen die Kontrakturgifte durch eine Erhöhung der Permeabilität wirken (FLECKENSTEIN[3]).

Es ist anzunehmen, daß nicht eine chemische Bindung des Veratrins mit irgendeinem Stoffwechselprodukt diese charakteristische Wirkung hervorruft, und daß das Veratrin — ebenso wie in diesem Falle Physostigmin und Atropin — keine spezifische Wirkung auf den Muskel ausübt. Es gibt ja mehrere Stoffe, die eine „Veratrin-Wirkung" haben, z. B. Glyzerine, Aldehyde u. a. m. (VERZAR u. FELTER[13]).

Hält man sich die Tatsache vor Augen, daß ohne eine vorangegangene Zuckung keine Veratrinkontraktion auftritt, und daß diese selbst bei starker Veratrinvergiftung durch mehrmaliges Reizen nach ganz kurzer Zeit zum Verschwinden zu bringen ist, — wobei die Initialzuckung unverändert bestehen bleibt, — so kann man vermuten, daß die Oberfläche der Muskelfasern durch das Veratrin in einen veränderten Zustand versetzt wird, der sich nur bei einer aktiven Bewegung des Muskels geltend macht, und aus dem sich der Muskel nach mehrmaliger kurz aufeinanderfolgender Aktion wieder zu lösen vermag.

Zusammenfassung.

Nach der von G. LAMM[7] entwickelten Methode wurden Azetylcholin, Physostigmin, Prostigmin und Atropin hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Veratrinkontraktion untersucht.

Physostigmin und Atropin wirken hemmend schon in sehr geringen Dosen (von 50 γ ab). Prostigmin und Azetylcholin sind unwirksam. Die Wirkung des Atropins und des Physostigmins kann nicht eine Ursache der parasympathischen Komponenten dieser Stoffe sein. Es wird auf Grund der bisherigen Versuchsergebnisse angenommen, daß die Ursache der Veratrinwirkung in einer reversiblen Veränderung — physikalischer Natur — der Oberflächen der Muskelfasern liegt und nicht in einer chemischen Bindung des Veratrins. Über die besondere Art dieser Veränderung kann auf Grund dieser Versuche nichts ausgesagt werden.

Literatur.

[1] Bacq: Arch. internat. Pharmacodynamie **63**, 59 (1939). — [2] Bonnet: Arch. méd. belges **3/4**, 213 (1948). — [3] Fleckenstein u. Hardt: Klin. Wschr. **21/22**, 360 (1949). — [4] Frey u. Weigmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 1 (1943). — [8] Harnack u. Witkowsky: zit. nach Heffters Handbuch II, **2**, S. 796. — [6] Krayer: Physiologic. Rev. **26**, 3 (1946). — [7] Lamm: Z. Biol. **56**, 223 (1911); **58**, 37 (1912). — [5] Löwi u. Solti: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **97**, 272 (1923). — [9] Riesser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 340 (1948). — [10] Riesser u. Neuschloss: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **92**, 254 (1922). — [11] Schüller u. Athmer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **91**, 125 (1921). — [12] Szent-Györgiy, Bacq u. Goffert: Nature (London), **143**, 522 (1939). — [13] Verzar u. Felter: Pflügers Arch. **158**, 421 (1914).

Dr. Marianne Grupp, Freiburg i. Br, Reichsgrafenstr. 9.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 230—242 (1951).

Aus dem Institut für animalische Physiologie in Frankfurt a. M.

Zur Kreislaufwirkung des Arterenols.

Untersuchungen am wachen Hund.

Von

WILHELM SCHROEDER und FELIX ANSCHÜTZ.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juli 1950.)

Die Kreislaufwirkung des Arterenols ist charakterisiert durch eine auffallende Bradykardie, die man aber nach Untersuchungen von P. HOLTZ regelmäßig nur beim Menschen beobachten kann, während sie bei Katzen und Hunden selten oder in wenig ausgeprägter Form auftritt. HOLTZ vermutete bereits, daß der auffallende Wirkungsunterschied durch die Narkose der Versuchstiere bedingt wäre. Tatsächlich läßt sich zeigen, daß Arterenol am nichtnarkotisierten Hund ebenfalls eine starke Bradykardie hervorruft, und daß diese Substanz zu wesentlich anderen Kreislaufumstellungen führt, als Adrenalin, wie dies bereits von HOLTZ, KOPPERMANN u. a. (weitere Lit. siehe HOLTZ a. a. O.) für den Menschen gezeigt werden konnte.

Wir haben die Arterenolwirkung auf den Kreislauf am nichtnarkotisierten Hund weiter untersucht, um einer Analyse des Mechanismus der verschiedenartigen Adrenalin- und Arterenolwirkung näher zu kommen.

Methodik.

Die Versuche wurden an 4 Hunden mit Karotisschlingen (WEZLER u. THAUER) vorgenommen, bei denen das Schlag- und Minutenvolumen sowie der elastische und periphere Gefäßwiderstand nach der Methodik von WEZLER u. THAUER bestimmt wurde. In einer Reihe von Versuchen wurde der Blutdruck an der Karotisschlinge, die Pulswellengeschwindigkeit im Aorta-Iliacarohr sowie der Venendruck in der vorderen Extremität fortlaufend registriert (SCHROEDER[1]). In einigen Versuchen wurde gleichzeitig die Pulswellengeschwindigkeit in der Aorta-Iliaca und in der A. Femoralis-Saphena aus der Zeitdifferenz des Karotispulses gegenüber dem Femoralispuls bzw. des Femoralispulses gegenüber dem arteriellen Pulse des Fußes errechnet. Die arteriellen Pulse des Fußes wurden mit Hilfe eines Gerätes zur fortlaufenden Registrierung des Blutdrucks in der Hundeextremität aufgenommen, in das der Fuß bis zum Sprunggelenk eingeführt wurde (SCHROEDER[2]). Die Injektionen erfolgten in eine Vene des Vorderbeins, in der eine Hahnkanüle mit Heftpflaster befestigt war.

Versuchsergebnisse.

HOLTZ u. KRONEBERG nehmen an, daß die Arterenolbradykardie wahrscheinlich durch einen BEZOLD-JARISCH-Reflex ausgelöst wird, weil

man die Frequenzabnahme nach Atropin nicht mehr nachweisen kann. Schäfer konnte zeigen, daß die Aktionsströme im peripheren Stumpf eines Herznerven durch Arterenol verstärkt werden. Auch beim unnarkotisierten Hunde wird die Arterenolwirkung durch Atropin verändert, und zwar steigt der Blutdruck regelmäßig stärker an als vorher,

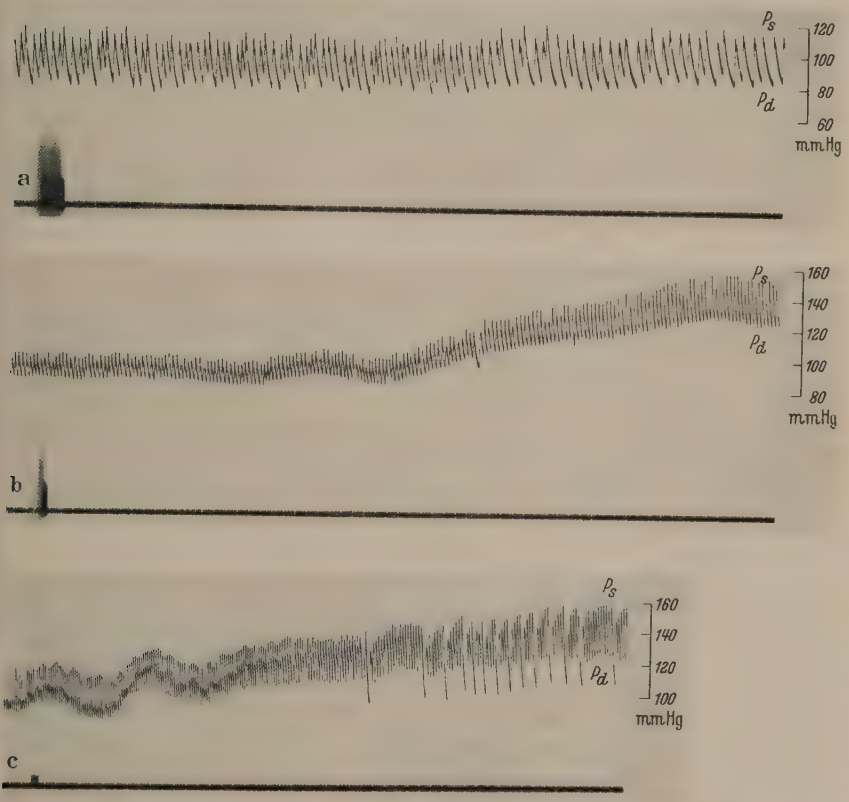


Abb. 1. Fortlaufende Registrierung des Karotisdruckes bei einer Arterenoldauerinfusion von 0,06 γ/kg/min, a) normales Tier, b) gleiches Tier 15 min nach der i. v. Injektion von 0,025 mg/kg Atropin, c) Vaguspulse bei einem anderen atropinisierten Tier während der Arterenolzufuhr (Dosierung wie in a und b.) Ps systolischer, Pd diastolischer Blutdruck (mm Hg), Zeit 2 sec.

während die Pulsfrequenz im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen am Menschen (Kroneberg) unter Arterenol am atropinisierten Tier nicht zunimmt (Abb. 1). Der erste Teil der Abb. 1 zeigt die normale Wirkung einer Arterenoldauerinfusion (0,06 γ/kg/min) auf den Blutdruck und die Herzfrequenz. Diese sinkt nach etwa 80 sec ab, ohne daß der mittlere arterielle Blutdruck sich wesentlich ändert (von 92 auf 98 mm Hg). Am atropinisierten Tier steigt der Blutdruck nach etwa 1 min (bei gleich-

großer Arterenolzufuhr wie in Abb. 1a) von 93 auf 142 mm Hg. Die Herzfrequenz steigt aber nicht mit an, sie kann sogar etwas abnehmen. Bei einem anderen Tier treten noch deutliche Vaguspulse auf (Abb. 1c). Durch Atropin wird also die bradykarde Arterenolwirkung abgeschwächt, und der Blutdruck steigt an. Allgemeiner ausgedrückt, werden die durch den Parasympathikus zustande kommenden Gegenregulationen, die am normalen Tier einen Blutdruckanstieg durch Arterenol verhindern, durch Atropin erheblich abgeschwächt. Diese Gegenregulationen erstrecken sich nicht nur auf das Herz, sondern auch auf das Gefäßsystem, weil am atropinisierten Tier auch der elastische und der periphere Gefäßwiderstand durch Arterenol stärker zunehmen.

Wir glauben nun nicht, daß die unter der Arterenolwirkung zu beobachtenden starken Gegenregulationen durch einen Bezold-Jarisch-Reflex allein zustande kommen, wie das von Holtz auf Grund seiner Atropinversuche vermutet wird. Denn die Atropinwirkung erstreckt sich ja auf alle parasympathischen Effektoren, die zum efferenten Schenkel depressorischer Kreislaufreflexe gehören. Diese Kreislaufreflexe müssen in ihrer Tätigkeit ebenso abgeschwächt werden wie der Bezold-Jarisch-Reflex. Daher können die ausgeprägten depressorischen Gegenregulationen nach Arterenol in gleicher Weise auch durch verstärkte Tätigkeit der Pressorreflexe zustande kommen.

Aus diesem Grunde haben wir untersucht, ob die Funktion des Karotissinusreflexes sich durch Arterenol in der Weise ändert, daß es jetzt durch den gleichen Sinusreiz zu stärkeren Gegenregulationen kommt.

Daß der Bezold-Jarisch-Reflex verstärkt in Aktion tritt, schien uns auch noch aus einem anderen Grunde unwahrscheinlich. Man müßte nämlich fordern, daß der Bezold-Jarisch-Reflex, d. h. die Bradykardie, sich in dem Zeitpunkt am stärksten auswirkt, in dem die Arterenolkonzentration *im* Herzen am größten ist. Dieser Zeitpunkt würde aber bei schneller intravenöser Arterenolzufuhr wenige Sekunden nach dem Ende der Injektion liegen, auf jeden Fall noch vor Beginn des Blutdruckanstieges. Man kann aber immer wieder beobachten, daß die Arterenolbradykardie sehr viel später (nach der halben Kreislaufzeit) und erst mit dem Blutdruckanstieg einsetzt. Nach Adrenalininjektionen beobachtet man oft vor der Phase der Frequenzerhöhung, die reflektorisch durch die Erniedrigung des peripheren Gefäßwiderstandes verursacht wird, wenige Sekunden nach der Injektion (5—10 sec) eine flüchtige Bradykardie (2—3 Pulse). Diese könnte durch den Bezold-Jarisch-Reflex verursacht sein, weil in dieser Phase der mittlere Blutdruck kaum verändert ist.

Nach neueren Versuchen von Jarisch u. Zottermann handelt es sich beim Bezold-Jarisch-Reflex nicht um eine chemische, sondern um eine mechanische Reizauslösung in der Herzmuskulatur. Es wäre also möglich, daß die mit der Blutdrucksteigerung einsetzende Bradykardie über diesen Reflex zustande kommt.

Damit wird aber nicht die bei einer Arterenoldauerinfusion auftretende Bradykardie erklärt, welche in typischer Weise ohne Blutdrucksteigerung zustande kommt.

Der Einfluß des Arterenols auf den Karotissinusreflex wurde nach einer früher mitgeteilten Methodik an einem Hunde mit 2 Karotisschlingen geprüft (Anschütz u. Schroeder[1]). An einer Schlinge kann man entweder den Aortendruck oder den Druck im zugehörigen Karotissinus fortlaufend registrieren, indem man die Schlinge entweder kopfwärts oder herzwärts des Blutdruckgerätes durch Kompression verschließt. Die andere zweite Karotisschlinge wird zur Auslösung eines (einseitigen) Karotissinusreflexes vorübergehend jeweilig durch Kompression verschlossen. Mit dieser Methode läßt sich sowohl der Druckabfall im Sinus als auch die reflektorische Blutdrucksteigerung in der Aorta genau bestimmen. Der Quotient aus dem endosinualen Druckabfall und dem reflektorischen Blutdruckanstieg (Q 1) ist dann ein Maß für die „Empfindlichkeit" des Karotissinusreflexes. Der Wert dieses Quotienten hängt in starkem Maße von der vegetativen Ausgangslage ab.

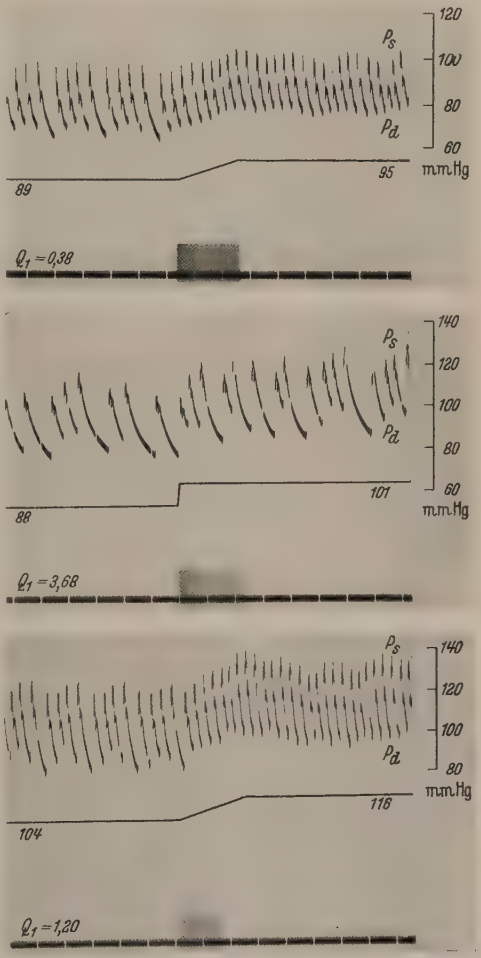


Abb. 2. Fortlaufende Registrierung des Aortendruckes bei einem Hund mit 2 Karotisschlingen, Änderung des Aortendruckes beim Verschluß der (zweiten) Karotisarterie. Oben: Normales Tier. Mitte: Während einer Arterenoldauerinfusion von 0,06 γ/kg/min. Unten: Während einer Adrenalindauerinfusion von 0,06 γ/kg/min. Ps systolischer, Pd diastolischer Blutdruck (mm Hg). Q 1 Druckanstieg in der Aorta/Druckabfall im Sinus. Der zeitliche Verlauf des mittleren Aortendruckes ist unter den Druckpulsen eingezeichnet. Zeit = 2 sec. Bei der Lichtmarke wird die zweite A. Karotis verschlossen.

Die Abb. 2 zeigt 3 Originalregistrierungen aus einem Versuch, in dem der Einfluß einer Arterenol- und Adrenalindauerinfusion auf die Größe des Quotienten Q 1 festgestellt wurde. Der obere Teil gibt einen Ausschnitt aus dem Normalversuch mit der Änderung des Aortendruckes beim Verschluß der zweiten Karotis wieder. Mit ihrer Kompression steigt sofort der mittlere Aortendruck (89 mm Hg) und erreicht nach etwa 4 sec einen neuen Wert (95 mm Hg). Der zeitliche Verlauf des mittleren Blutdruckes ist unter den Druckpulsen

eingezeichnet. Der Normalwert für Q 1 betrug bei diesem Versuch 0,38. Durch eine Arterenoldauerinfusion (0,06 γ/kg/min), welche die Herzfrequenz senkt, ohne den mittleren Blutdruck zu erhöhen, wird der Ablauf des Karotissinusreflexes wesentlich geändert. Mit dem Verschluß der zweiten Schlinge stellt sich jetzt der Aortendruck *fast momentan* auf seine neue Höhe ein (von 88 auf 101 mm Hg) und der Wert für Q 1 vergrößert sich auf das Vielfache, nämlich auf 3,68. Bei einer kleineren Dauerinfusionsmenge (0,04 γ/kg/min) wurde ein Q 1 von 1,62 gefunden. Arterenol steigert also die Empfindlichkeit des Karotissinusreflexes, d. h. durch den gleichen Sinusreiz wird der Blutdruck stärker verändert als normalerweise. Neben der Empfindlichkeit wird außerdem noch die Geschwindigkeit der Regulation bedeutend erhöht, weil die neue Blutdruckhöhe bereits mit dem nächsten Herzschlag erreicht wird.

Wegen dieser Wirkung auf den Karotissinusreflex muß man die Kreislaufumstellung durch Arterenol folgendermaßen deuten: primär erhöht diese Substanz den elastischen und vor allem den peripheren Gefäßwiderstand (siehe weiter unten), so daß man einen Blutdruckanstieg erwarten könnte. Der arterielle Mitteldruck ändert sich aber nicht, weil gleichzeitig das Minutenvolumen über die Pressorrezeptoren, deren Empfindlichkeit mit der Arterenolzufuhr zunimmt, stark gedrosselt wird (Bradykardie).

Auch Adrenalin erhöht die Empfindlichkeit des Karotissinusreflexes, wie bereits früher gezeigt werden konnte. Dieser Einfluß ist jedoch im Vergleich zur Arterenolwirkung sehr viel geringer. Der untere Teil der Abb. 2 bringt als Kontrolle einen Adrenalinversuch, in dem, wie in dem vorangegangenen Arterenolversuch, 0,06 γ/kg/min Adrenalin infundiert wurde. Das Bild entspricht in bezug auf den Zeitfaktor weitgehend dem Normalversuch, doch steigt der Wert für Q 1 auf 1,2 an.

Nach den Untersuchungen von Palme u. Wick ist die Adrenalinkonzentration im Blut bzw. im Karotissinus maßgebend für die Stärke der depressorischen Gegenregulation. Die lokale Adrenalinkonzentration im Sinusgebiet soll durch einen sympathischen Nervenast kontrolliert werden, der neben dem kapillaren Gefäßknäuel und dem eigentlichen Sinusnerven in die paraganglionären Zellen zieht. Durch eine Reizung dieses sympathischen Astes wird die Empfindlichkeit des Karotissinusreflexes vermindert, d. h. die gleiche künstliche Druckerhöhung im Karotissinus bewirkt jetzt einen geringeren Blutdruckabfall.

Die eigenen Untersuchungen bestätigen den Einfluß des Adrenalinspiegels im Blute auf den Karotissinusreflex. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Palme und Wick fanden wir aber immer, daß die Empfindlichkeit des Reflexes mit der Erhöhung des Adrenalinspiegels zunahm d. h. also, daß der gleiche Sinusreiz bei erhöhtem Spiegel den Blutdruck *stärker* änderte. Wir können nicht sicher sagen, worauf diese verschiedenen Ergebnisse zurückzuführen sind, vermuten aber, daß sowohl die

Narkose, als auch die unterschiedliche Adrenalin*dosierung* dafür verantwortlich sein können.

Am Hunde läßt sich der Einfluß der Narkose auf vegetative Reflexe am Modell des Hustenreflexes ziemlich gut erfassen (Schroeder u. Anschütz[2]). Man kann nämlich durch elektrische Reizung (mit „kurzen spitzen" Spannungsstößen) afferenter Hustenfasern, wie sie in einer sogenannten Vagusschlinge (Schroeder u. Blohmke) verlaufen, einen Hustenreflex auslösen, der bei bestimmten Reizfrequenzen sein Optimum hat. Unterhalb einer bestimmten Reizfrequenz läßt sich auch mit größten Reizspannungen kein Hustenreflex mehr auslösen. Diese untere Frequenzschwelle ist bei jedem Tier verschieden und zeigt geringe tägliche Schwankungen von 0,1—0,2 Hz. Durch eine Narkose wird nun die Frequenzschwelle des Hustenreflexes um mehrere Hz heraufgerückt z. B. von 0,7 auf 5 Hz. Jetzt läßt sich erst bei dieser Frequenz ein Hustenstoß auslösen, doch benötigt man auch bei dieser Frequenz höhere Reizspannungen als bei dem unnarkotisierten Tier. Wesentlich für die Narkosewirkung scheint unter anderem zu sein, daß die zentralen Ganglienzellen des Hustenreflexes in der Narkose die Fähigkeit verloren haben, Impulse geringerer Frequenz wirksam werden zu lassen. Durch die Narkose wird wahrscheinlich bei vielen vegetativen Reflexen ein Stück des Impuls-Frequenzbandes afferenter Nervensozusagen abgeschnitten, und man darf hierin wohl den Grund für die in der Narkose veränderten Kreislaufreflexe sehen.

Die Veränderung des Karotissinusreflexes durch eine Narkose läßt sich mit der oben angewendeten Methodik quantitativ erfassen. So wurde z. B. in einer Evipannarkose der Wert des Quotienten Q 1 um 43% verringert, während die Anstiegszeit um 260% zunahm. Eine Druckänderung im Sinus führt in der Narkose zu ungenügenden und träge verlaufenden Gegenregulationen.

Bezüglich der verwendeten Adrenalinmenge konnten wir beobachten, daß der Wert des Quotienten Q 1 bei sehr hohen Infusionsmengen, die den Blutdruck stärker erhöhen (über 1,8 γ/kg/min), wieder sinkt. Es ist möglich, daß die von Palme auf den Sinus aufgebrachte Adrenalinlösung von $1:2 \times 10^6$ zu einer örtlichen Adrenalinkonzentration führte, welche die mit unserer Dauerinfusionsmethode erreichten Konzentrationen wesentlich übertraf, und daß es deshalb zu unterschiedlichen Ergebnissen kam. Außerdem muß man berücksichtigen, daß die Adrenalinwirkung in den Versuchen von Palme örtlich beschränkt war, während in den eigenen Versuchen das Adrenalin am ganzen Tier, also an vielen Stellen wirkte. Diese Tatsache könnte ebenfalls der Grund für das verschiedene Ergebnis sein.

Weil Arterenol einen sehr viel stärkeren Einfluß auf die Empfindlichkeit des Karotissinusreflexes als Adrenalin besitzt, kann man vermuten, daß die von dem sympathischen Nervenast im Sinusgebiet abgegebene Substanz Arterenol ist. Palme selbst nahm an, daß es sich um eine adrenalinähnliche Substanz handeln könne.

Koch stellte bei verschiedenen Tieren die Reaktion des Aortendruckes auf einen veränderten Sinusinnendruck in sogenannten Blutcharakteristiken dar, deren Steilheit (im mittleren Druckbereich) dem Quotienten Q 1 entspricht. Er fand stärkere

Unterschiede in der Steilheit bei den verschiedenen untersuchten Tierarten, die sehr gut auf einer verschieden starken Arterenolsekretion beruhen könnten, da z. B. die Nebenniere des Kaninchens nur Adrenalin und die der Katze sehr viel Arterenol enthält (KRONEBERG u. SCHÜMANN).

Auf Grund der eigenen Versuche glauben wir, daß man für die Arterenolbradykardie hauptsächlich die erhöhte Empfindlichkeit des Karotissinusreflexes verantwortlich machen muß. Sie unterscheidet sich dadurch wesentlich von der Adrenalinbradykardie, die mit einem erhöhten Blutdruck verbunden ist.

Die gleichzeitige Beobachtung des Gefäßmoduls der Aorta-Iliaca und der A. Femoralis-Saphena (durch Messung der Pulswellengeschwindigkeiten an diesen Gefäßen) ergibt, daß Arterenol den Modul in den peripheren Gefäßen stärker erhöht als in der Aorta, wodurch sich der Quotient $\frac{\text{a fem}}{\text{a Aort}}$ vergrößert (Tab. 1). Weil die Modulerhöhung in den Extremi-

Tabelle 1. *Die Tabelle zeigt die Abhängigkeit der Arterenolwirkung von der Zeit.* Arterenoldauerinfusion (0,06 γ/kg/min). Kreislaufwerte in der 2., 3. und 6. min. Vn. 348 vom 20. 6. 1950, Hund „Nelly", Raumtemperatur 23°.

	K 1 normal	K 2 nach 2 min	K 3 nach 3 min	K 4 nach 6 min
Frequenz (pro min)	87	83	55	40
Aortendruck	106/62	106/62	107/62	117/75
Mitteldruck (mm Hg)	85	84	87	96
Blutdruckamplitude (mm Hg)	46	43	39	42
Minutenvolumen (Lt)	2,39	2,14	1,01	0,60
Elastischer Gefäßwiderstand $\left(\frac{\text{dyn}}{\text{cm}^5}\right)$	4450	4440	5660	7080
Peripherer Gefäßwiderstand $\left(\frac{\text{dyn} \cdot \text{sek}}{\text{cm}^5}\right)$	2840	3140	6860	12200
E′/W	1,56	1,38	0,82	0,56
Herzleistung $\left(\frac{\text{erg}}{\text{sec}} \cdot 10^6\right)$	4,5	4,05	1,92	1,35
Pulswellengeschwindigkeit i. d. Aorta-Iliaca (m/sec)	4,18	4,14	4,60	4,95
Pulswellengeschwindigkeit in der Femoralis-Saphena (m/sec)	7,26	7,26	8,24	10,25
$\frac{\text{a fem.}}{\text{a Aort.}}$	1,74	1,75	1,80	2,05

tätengefäßen mit einer Drosselung der Extremitätendurchblutung (ANSCHÜTZ u. SCHROEDER[2]) einhergeht, muß der Arterenolwirkung eine sehr

starke Kontraktion der Gefäßmuskulatur zugrunde liegen, die sowohl den Gefäßmodul erhöht als auch das Gefäßlumen verengt.

Bei kurzdauernden Kreislaufbelastungen — Erstickungsversuche (Wezler), Adrenalinbelastung (Wezler u. Böger) — nimmt der Quotient aus den beiden Pulswellengeschwindigkeiten ab, weil die Kontraktion der Muskulatur der peripheren Gefäße die elastischen Wandelemente entspannt und auf diese Weise den Gefäßmodul erniedrigt (Wezler u. Böger). Bei starken spastischen Kontraktionen kann man jedoch einen erhöhten Modul finden, wie dies von Wezler bei Myxödemkranken beobachtet wurde. Mit zunehmender Gefäßmuskelkontraktion wird also der Gefäßmodul zunächst abnehmen, um dann bei stärkeren Kontraktionszuständen wieder über seinen Normalwert anzusteigen.

Derartige maximale Modulzunahmen erhält man regelmäßig durch eine geeignete Arterenolzufuhr. Diese Substanz erhöht den Gefäßtonus, wenn man darunter einen anhaltenden Kontraktionszustand der Gefäßmuskulatur versteht. Die Tonusänderung ist aber, wie jede Tonusänderung glattmuskeliger Organe, ein relativ langsam ablaufender Prozeß und eine Funktion der Zeit. Dieser Zeitfaktor kommt sowohl in der langen Latenzzeit der Wirkung (vgl. den Eintritt der Bradykardie bei einer Arterenoldauerinfusion in Abb. 1) als auch in der langen Wirkungsnachdauer zum Ausdruck, die 10—30 min betragen kann.

Die Abnahme des Pulswellengeschwindigkeitsquotienten in den akuten Erstickungs- und Adrenalinbelastungsversuchen kann man vielleicht damit erklären, daß es sich dabei um schnell verlaufende Vorgänge handelt, die reflektorisch gesteuert werden, während die Modulerhöhung durch Arterenol eine langsam verlaufende tonische Reaktion darstellt, die lokal durch diesen Wirkstoff ausgelöst wird.

Diese Vermutung wird durch Versuche gestützt, in denen bei dem gleichen Tier Pulswellengeschwindigkeitsdruckkurven einmal nach einer Einzelinjektion und zum anderen nach einer Dauerinfusion von Arterenol sowohl für die Aorta-Iliaca als auch für die Femoralis-Saphena ermittelt wurden. Im Verlauf der Einzelinjektion nimmt bei gleicher Blutdruckerhöhung die Pulswellengeschwindigkeit in den peripheren Gefäßen in dem gleichen Maße zu wie in der Aorta-Iliaca, so daß sich die Pulswellengeschwindigkeitsquotienten kaum ändern. Im Verlaufe einer Arterenoldauerinfusion wird dagegen — bei meist konstantem Blutdruck — der Modul in den peripheren Gefäßen stärker als in den zentralen erhöht, so daß der Pulswellengeschwindigkeitsquotient *immer* größer wird. Die nach akuten Belastungen gefundene geringe Modulabnahme der peripheren Gefäße bei größerem Blutdruckanstieg läßt sich nur so erklären, daß in diesen Versuchen der Modul durch die Gefäßmuskelkontraktion verringert wurde. Damit kommen wir in unseren Versuchen richtungsmäßig zu den gleichen Ergebnissen, wie sie von Wezler in den akuten Erstickungs- und Adrenalinbelastungsversuchen gefunden wurden.

Eine einzelne große Arterenolinjektion bewirkt ebenfalls eine Bradykardie, die aber im Gegensatz zu der Wirkung einer Arterenoldauerinfusion mit einer arteriellen Drucksteigerung verbunden ist (Abb. 3). Diese Drucksteigerung beruht, wie bei einer gleichgroßen Adrenalininjektion, auf einer Erhöhung des elastischen und peripheren Widerstandes. Das Minutenvolumen wird durch Arterenol immer verkleinert, während es durch Adrenalin in der Regel vorübergehend (bei Einzelinjektionen) er-

höht wird. Wenn man für den Mittelteil beider Kurven (40.—70. sec) eine Frequenz-Blutdruckkurve zeichnet, laufen beide Kurven fast parallel. Hieraus kann man entnehmen, daß die Empfindlichkeit der Pressorrezeptoren in beiden Versuchen etwa gleich ist. Aus diesen akuten Versuchen läßt sich folgern, daß es bei relativ großen Arterenolmengen auch in kürzester Zeit zu einer Gefäßreaktion kommen kann (Erhöhung des elastischen und peripheren Gefäßwiderstandes), daß aber bei diesen

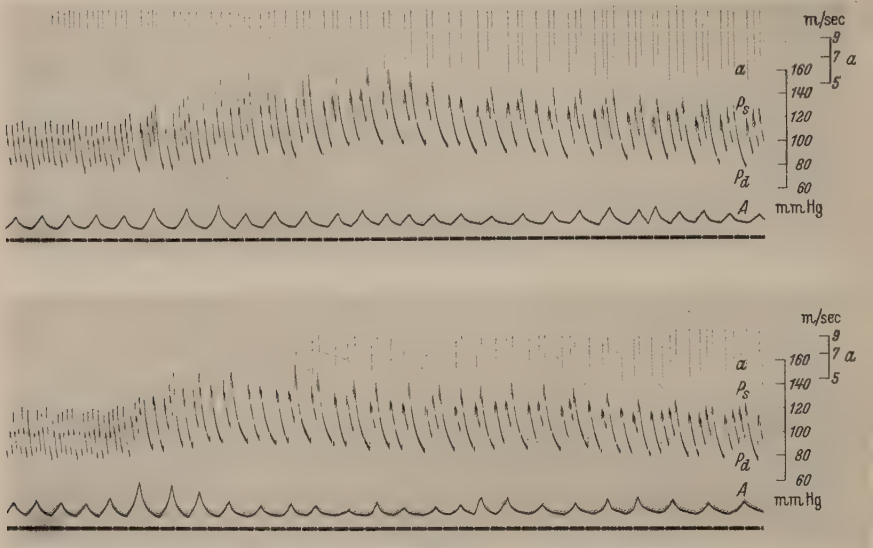


Abb. 3. Fortlaufende Registrierung des Blutdruckes und der Pulswellengeschwindigkeit im Aorta-Iliakarohr (a) nach einer Adrenalin- (oben) und nach einer Arterenol- (unten) Einzelinjektion von jeweils 1 γ/kg. Ps systolischer, Pd diastolischer Blutdruck, A Atmung, Zeit 2 sec. Injektion während der Lichtmarke in der Zeitschreibung.

akuten Versuchen noch nicht die Empfindlichkeit des Karotissinusreflexes erhöht wird. Die Reaktionsänderung des Karotissinusreflexes hat wie die Änderung des Gefäßmuskeltonus eine lange Latenzzeit.

Wegen des starken Arterenoleinflusses auf den Gefäßmuskeltonus muß man sich die Frage vorlegen, ob durch den erhöhten Kontraktionszustand der Gefäßmuskulatur die Reaktionsfähigkeit des Gefäßapparates gegenüber anderen physiologischen Substanzen geändert wird. Wir haben deshalb die Adrenalin-, Histamin- und Azetylcholinreaktionen des Kreislaufes bzw. bestimmter Kreislaufteile vor und während einer Arterenoldauerinfusion miteinander verglichen. Die blutdrucksteigernde Adrenalinwirkung (durch Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes) wird nicht oder nur wenig abgeschwächt, doch ist die Wirkungsdauer des Adrenalins infolge der stärkeren Gegenregulationen verkürzt.

Der Gefäßmuskel scheint damit in seinem Verhalten dem Musc. Rectus abdominis des Frosches zu entsprechen, dessen Zuckungen durch elektrische Reizung auch bei verschiedenen Kontraktionszuständen, wie man sie durch Azetylcholin hervorrufen kann, gleich groß sind (Riesser u. Klein).

Da Histamin und Azetylcholin die Durchblutung der Extremität in charakteristischer Weise beeinflussen, wurde ihre Wirkung auf den Venendruck vor und während einer Arterenoldauerinfusion untersucht (Methodik siehe Schroeder). Die Histaminwirkung, die zu einer Erweiterung der Arteriolen und Kapillaren führt, wird durch Arterenol nicht verändert, während die Wirkung des Azetylcholins, das die arteriovenösen Anastomosen erweitert (Schroeder u. Anschütz) stark abgeschwächt oder aufgehoben wird. Die Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes kommt offenbar nicht nur durch eine Engerstellung der nutritiven Gefäße, sondern auch durch einen mehr oder weniger vollkommenen Verschluß der arterio-venösen Anastomosen zustande.

Die Wirkung des Arterenols auf die verschiedenen Kreislaufteile führt somit zu einer Drosselung der gesamten Kreislaufleistung. Im Mittelpunkt der Wirkung steht die langanhaltende Erhöhung des kontraktilen Tonus der Gefäßmuskulatur, die mit einer Drosselung der Durchblutung peripherer Gefäßgebiete einhergeht. Hierdurch steigt der gesamte periphere Gefäßwiderstand, ohne daß sich aber ein Widerstandshochdruck entwickelt, weil der Blutdruck infolge der gesteigerten Empfindlichkeit der Pressorreflexe auf seiner Ausgangshöhe gehalten wird. Die Reaktion auf den vergrößerten elastischen und peripheren Gefäßwiderstand ist eine Minutenvolumensenkung, die in ihrem Ausmaß so fein einreguliert ist, daß der Blutdruck konstant bleibt. Um eine derartige Kreislaufumstellung mit Blutdruckkonstanz im Tierversuch zu erreichen, muß man für das Arterenol eine geeignete Infusionsmenge pro Minute wählen und eine genügend lange Zeit bis zur maximalen Wirkung abwarten. Bei zu hohen Infusionsmengen kann der Blutdruck etwas ansteigen (Tab. 1, K 4). Wegen des konstanten Blutdruckes ist die Abnahme der Herzleistung direkt proportional der Abnahme des Minutenvolumens.

Eine höhere Ökonomie des Kreislaufs zeigt sich auch in dem mehr oder weniger vollkommenen Verschluß der arterio-venösen Anastomosen in den Extremitäten, in denen nur noch eine für den basalen Stoffwechsel gerade ausreichende Blutströmung durch die nutritiven Gefäße aufrecht erhalten wird.

Die gesamte Kreislaufänderung hat ihre Parallele in jener Kreislaufumstellung, die man gewöhnlich als „vagotone" oder mit W. R. Hess als „histotrope" Ruheeinstellung des Kreislaufs bezeichnet. „Wir finden bei vagotonischer Kreislaufumstellung einen hohen peripheren Strömungswiderstand — also eine *Engstellung der peripheren Gefäße* — und ein niedriges Verhältnis E'/W. Das Minutenvolumen und die Herzleistung

betragen beim Vagotoniker unter Umständen nur ein Drittel des Sympathikotonikers, das Herz des Vagotonikers arbeitet im „Schongang" (Wezler)". Die gleichen Kriterien lassen sich auch für den Arterenolkreislauf anführen.

Wir müssen uns deshalb fragen, ob die als „vagoton" oder „histotrop" bezeichnete Kreislaufumstellung vornehmlich durch einen Wirkstoff des parasympathischen oder des sympathischen Nervensystems zustande kommt, oder ob sie unabhängig durch zwei verschiedene Stoffe ausgelöst werden kann. Oder anders ausgedrückt, kommt die Engstellung der peripheren Gefäße, die zum Wesen des vagotonen Sparkreislaufes gehört, durch Azetylcholin oder durch Arterenol zustande? Diese Frage könnte man sofort beantworten, wenn man mit dem Überträgerstoff der Vaguswirkung, dem Azetylcholin, den Kreislauf ebenfalls „vagoton" umstellen könnte. Nach intravenösen Azetylcholininfusionen wird aber im Gegenteil der periphere Gefäßwiderstand herabgesetzt und das Minutenvolumen erhöht. Die Wirkung des intravenös zugeführten Azetylcholins braucht aber keineswegs mit der Wirkung des von den parasympathischen Nerven am Wirkungsort abgegebenen Azetylcholins übereinzustimmen. Hierfür spricht, daß eine Erhöhung des an den Nervenendigungen freigesetzten Überträgerstoffes durch Prostigmin (0,025 mg/kg subkutan) ebenfalls eine vagotone Kreislaufumstellung hervorrufen kann. Ob es sich aber hier tatsächlich um den gleichen Kreislaufzustand handelt wie nach Arterenol, müßte noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Denn eine Korrespondenz zwischen den Kreislaufgrößen des zentralen Kreislaufs (arterieller Mitteldruck, Herzfrequenz, elastischer und peripherer Gefäßwiderstand) beweist noch nicht, daß auch in der Peripherie die gleiche Kreislaufumstellung eingetreten ist. Auf Grund eigener Untersuchungen wissen wir z. B., daß Azetylcholin die nutritiven Gefäße der Hundeextremität verengt und die arterio-venösen Anastomosen erweitert, während Arterenol die arterio-venösen Anastomosen schließt (Schroeder u. Anschütz[1]). Die gleiche periphere Widerstandserhöhung könnte also in dem einen Fall auf einer Verengerung der Kapillaren und der Arteriolen (Azetylcholin) und im anderen Fall der arterio-venösen Anastomosen (Arterenol) beruhen. Die Richtung der „cholinergischen" und „arterenergischen" Kreislaufreaktion ist für die zentralen Kreislaufgrößen prinzipiell gleich, doch lassen sich im Experiment durch Arterenol stärker ausgeprägte „vagotone" Kreislaufzustände erzielen.

Im Organismus gibt es aber auch Beispiele dafür, daß es sowohl bei Reizung sympathischer als auch parasympathischer Nerven zu gleichen oder zu gleichartigen Reaktionen kommt. So wird die Tränendrüse sowohl durch sympathische als auch durch parasympathische Fasern zur Sekretion veranlaßt, und analoges gilt für die Speicheldrüse, bei der allerdings die Qualität des Sekretes verschieden ist. Möglicherweise wird eine „vagotone" Einstellung des gesamten Organismus zwar

von einer Stelle des Zentralnervensystems gesteuert, aber mit Hilfe verschiedener Wirkstoffe, zu denen ja auch die Ionen gehören, in den einzelnen Organen durchgesetzt.

Während der Arterenolversuche konnten wir noch die auffallende Beobachtung machen, daß die Kreislaufumstellung immer mit einer Schlafneigung des Tiers verbunden war. Durch Adrenalin- und Azetylcholindauerinfusionen werden die Tiere unruhig, während durch Arterenol das Gegenteil eintritt und die Hunde die Augen schließen. Der Mensch fühlt sich ebenfalls nach einer Arterenolinjektion wesentlich wohler als nach Adrenalin (Kroneberg). Auch diese Beobachtung paßt zu der Annahme, daß durch Arterenol eine allgemeine „vagotone" Einstellung des Organismus ausgelöst wird. Dafür spricht auch die fehlende Stoffwechselsteigerung des Arterenols (Reale u. Mitarb.; Kroneberg beobachtete Stoffwechselsteigerungen von durchschnittlich 5,8%).

Die Eigenschaften des Arterenols geben dieser Substanz eine ganz andere Bedeutung für den Kreislauf als das ergotrope Adrenalin. Der geminderten Kreislaufleistung mit Durchblutungsdrosselung der Peripherie durch Arterenol steht der Arbeitskreislauf mit der verstärkten Durchblutung der arbeitenden Organe durch Adrenalin gegenüber. Charakteristisch für den Wirkstoffunterschied beider Substanzen ist die Latenzzeit und die Nachdauer ihrer Wirkung. Bei Arterenoldauerinfusionen vergeht bis zum Wirkungseintritt einige Zeit, doch hält die Wirkung nach Beendigung der Zufuhr noch lange an, während der Adrenalineffekt sofort einsetzt und sofort wieder aufhört. Der typischen Arterenolwirkung dürfte deshalb auch im Organismus eine geringe aber kontinuierliche Sekretion zugrunde liegen, während Adrenalin plötzlich in großen Mengen in den Kreislauf geworfen werden kann, wie das bei den Notfallsfunktionen der Fall sein muß.

Therapeutisch könnte man das Arterenol bei jenen Kreislaufzuständen erproben, die mit einem krankhaft vergrößerten Minutenvolumen einhergehen. Hier müßte man vor allen Dingen an den paralytischen oder febrilen Kollaps (Duesberg u. Schroeder) denken, bei dem das Minutenvolumen stark erhöht, der Gefäßmodul herabgesetzt und die arteriovenösen Anastomosen erweitert sind. Es ist gut denkbar, daß Arterenol auf Grund seiner physiologischen Eigenschaften den Kreislauf des paralytischen Kollapses wesentlich zu bessern vermag.

Zusammenfassung.

Untersuchungen über die Kreislaufwirkung des Arterenols an nichtnarkotisierten Karotisschlingen-Hunden ergab, daß diese Substanz vor allem die Durchblutung der Kreislaufperipherie drosselt. In den Extremitäten werden die Gefäße unter starker Zunahme ihres Moduls verengt und die arterio-venösen Anastomosen mehr oder weniger verschlossen

(Erhöhung des peripheren Gefäßwiderstandes). Unter der Arterenolwirkung steigt aber der Blutdruck nicht an, weil gleichzeitig mit der Erhöhung des Gefäßwiderstandes das Minutenvolumen stark gesenkt wird. Diese besonders ausgeprägte Gegenregulation kommt über die Pressorrezeptoren zustande, deren Empfindlichkeit durch Arterenol stark gesteigert wird. Die Arterenolwirkung setzt langsam ein und klingt nach Absetzen des Präparates sehr langsam wieder ab. Bei geeigneter Zufuhr (kleinste Mengen über längere Zeit) entspricht der Arterenolkreislauf weitgehend dem „vagotonen" Sparkreislauf. In diesem Zustand ist die Reaktionsfähigkeit des Kreislaufs gegenüber Adrenalin und Histamin nicht verändert, während die Azetylcholinwirkung stark abgeschwächt oder sogar aufgehoben ist.

Literatur.

Anschütz, F., u. W. Schroeder [1]: Z. exper. Med. **116**, 150 (1950) [2]; **116**, 291 (1950). — Duesberg, R., u. W. Schroeder: Pathophysiologie und Klinik der Kollapszustände. Leipzig: Hirzel 1944. — Holtz, P.: Klin. Wschr. **1950**, 145. — Die Pharmazie **5**, 49 (1950). — Jarisch, A., u. V. Zottermann: Acta physiol. scand. **16**, 31 (1948). — Koch, E.: Die reflektorische Selbsteuerung des Kreislaufs. Th. Steinkopff 1931. — Koppermann, E.: Z. Kreislaufforschg **39**, 77 (1950). — Kroneberg, G.: Klin. Wschr. **1950**, 353. — Kroneberg, G., u. H. J. Schümann: zit. nach Holtz. — Palme, F.: Z. exper. Med. **113**, 415 (1944). — Reale, A., A. Kappert, C. H. Skoglund, u. G. C. Sutton: Acta physiol. scand. **20**, 153 (1950). — Riesser, O., u. Ph. Klein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **170**, 580 (1933). — Schäfer, H.: zit. nach Holtz. — Schroeder, W.: [1] Arch. Kreislaufforschg **15**, 24, 33 (1949). — [2] Z. Biol. **103**, 389 (1950). — Schroeder, W., u. F. Anschütz: [1] Z. Biol. **103**, 395 (1950). — [2] Z. exper. Mediz. (im Druck). — Schroeder W., u. M. Blohmke: Pflügers Arch. **252**, 250 (1950). — Wezler, K.: Pflügers Arch. **244**, 622 (1941). — Z. Kreislaufforschg **27**, 721 (1935). — Wezler, K., u. A. Böger: Erg. Physiol. **41**, 292 (1939). — Wezler, K., u. R. Thauer: Z. exper. Med. **108**, 377 (1941). — Z. Kreislaufforschg **33**, 486 (1941). — Wick, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 490 (1948).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 243—250 (1951).

Aus dem Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Abteilung für experimentelle Pathologie (Leiter: Prof. Dr. W. Tönnis) am Knappschaftskrankenhaus Bochum-Langendreer, und dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Elektrencephalographische Analyse der Wechselwirkung von Narkotikum und Analeptikum.

Von

Wilhelm Driesen, Fritz Hahn und Walter Rummel.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1950.)

Da wir nach früheren Arbeiten[1, 2, 3] in Unterschieden der Angriffspunkte und der lähmenden Komponenten den Schlüssel für das Verständnis der recht verschieden stark ausgeprägten Weckwirkung von Cardiazol und Coramin erblicken, so lag es nahe, auch diese wichtige Wirkung elektrencephalographisch anzugreifen, um die Zusammenhänge zwischen pharmakologischen Tatsachen und hirnelektrischen Erscheinungen abzurunden.

Bei dem Problem der Weckwirkung steht aber auch noch zur Diskussion, daß ein und dasselbe Weckmittel gegenüber verschiedenen Narkosearten ganz unterschiedliche Weckeffekte entfalten kann. Auch hier versprach die EEG-Analyse tiefere Einsichten. Es ist nämlich bekannt, daß die verschiedenen Narkotika ungleiche Einflüsse auf das Hirnstrombild ausüben (Literatur bei Schaefer[4] und Kornmüller[5]). Darum war zu vermuten, daß der Grad der Weckwirkung, elektrencephalographisch gemessen, in Beziehung zum narkotischen Ausgangszustand stehen könnte. — Wir benutzten als sogenannte Hirnstammnarkotika (Fulton[6]) 2 Barbitursäuren, nämlich Prominal und Luminal, als sogenannte Rindennarkotika Äther und Chloralose. Die angeführten Barbitursäuren wurden deshalb ausgewählt, weil sie besondere Bedeutung auch für das in einer späteren Arbeit behandelte Problem der Krampfhemmung haben.

Die Versuche wurden an Katzen ausgeführt. Die Methode war die gleiche wie in der früheren Veröffentlichung[1]. Es wurde wieder der einstrahlige Elektrenzephalograph der Fa. Elektrofrequenz Schwarzer benutzt. Auf den besonderen Vorteil des Apparates, der es gestattet, mit Hilfe des mechanischen Schreibsystems die elektrischen Erscheinungen während des Versuchs zu beobachten, sei besonders hingewiesen. Abgeleitet wurde von einer in die knöcherne Schädeldecke eingelassenen Elektrode über der linken oder rechten Zentralwindung. Die Erdableitung geschah von der gegenüberliegenden Seite. Die indifferente Elektrode war im Nasenbein. Als Elektroden dienten vernickelte Schrauben, die vorsichtig in den von Muskeln und Periost befreiten Schädelknochen eingeschraubt wurden. – Die Katzen wurden

mit 50—60 mg/kg Evipan i. p. narkotisiert. Diese leichte Evipannarkose hat, wie schon früher gezeigt, keinen hemmenden Einfluß auf das Hirnstrombild. Die Tiere wurden künstlich beatmet, um alle über die Atmung laufenden Änderungen des EEG auszuschließen. Neu war in unseren jetzigen Versuchen die laufende Kontrolle des Blutdrucks. Dies hat sich, wie wir an späteren Stellen zeigen werden, als besonders wichtig erwiesen. Es gibt im EEG typische Kreislaufkollapseffekte, die allerdings, um es vorwegzunehmen, für die hier niedergelegten Ergebnisse auszuschließen sind. Da sowohl Narkotika wie auch Analeptika (Hahn[7]) den Blutdruck senken können, wurde das Hirnstrombild immer erst dann registriert, wenn sich der Blutdruck wieder auf sein altes oder auf ein neues Niveau einreguliert hatte.

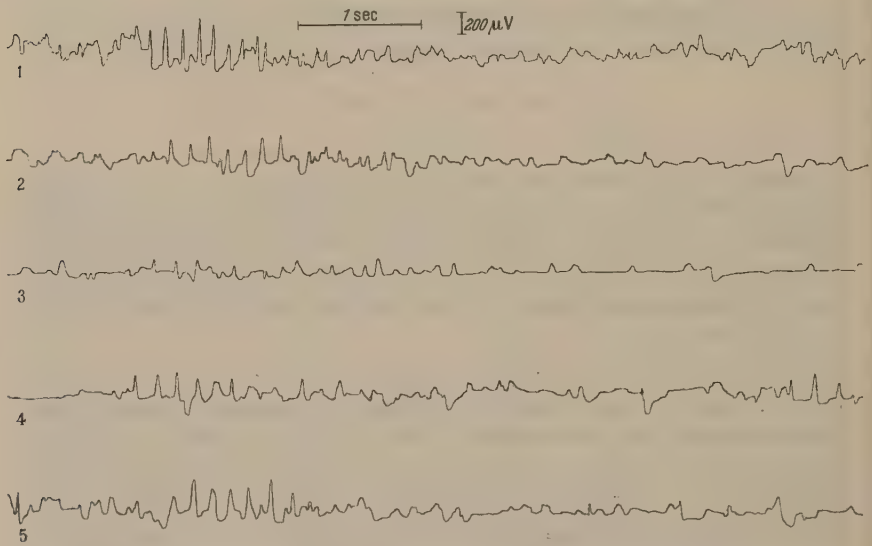


Abb. 1. Katze ♂, 2,6 kg, 150 mg Evipan i. p. 1. Ausgangskurve. Typisches Normalbild mit periodisch eingestreuten 8-Hertz-Gruppen (hier eine Gruppe festgehalten). RR 150 mm Hg. — Kornealreflex +. 2. Nach 3 × 50 mg Luminal i. v. Deutliche Abnahme der Amplituden in der Gruppe. Auch im Zwischenstück beginnende Beruhigung. RR 130 mm Hg. — Kornealreflex noch +. 3. Nach insgesamt 275 mg Luminal i. v. Weitere Reduzierung der Spannungsproduktion. Gruppenbildung noch erkennbar. RR vorübergehend 95, dann wieder 115 mm Hg. — Kornealreflex —. 4. Nach 50 mg Cardiazol i. v. Sofortige Aktivierung bis etwa zur Stufe der Nr. 2. RR nach flüchtigem Abfall 110 mm Hg. — Kornealreflex schwach +. 5. Nach insgesamt 150 mg Cardiazol i. v. Weitere Aktivierung, besonders hinsichtlich der Amplituden der Gruppe. RR 110 mm Hg. — Kornealreflex +.

Da gegenüber Barbitursäure die Weckwirkung des Cardiazols besonders gut ausgeprägt ist, stellen wir die Luminalnarkose an die Spitze. Mit dem Antagonismus Luminal-Cardiazol haben sich besonders Waton[8], Barenque[9], Koppanyi, Linegar u. Dille[10], Gierlich[11] und in unserem Institut Palme[12] beschäftigt.

Die gute Weckwirkung des Cardiazols ist, wie Abb. 1 zeigt, gegenüber Luminal auf dem EEG schön darstellbar. Die charakteristische Wirkung des Luminals bei einer bis zum Erlöschen des Kornealreflexes vorgetriebenen Narkose besteht in einer starken Reduktion der Spannungsproduktion. Zu einem völligen Erlöschen kommt es jedoch nicht. Qualitativ erscheint sogar das Normalbild, wie die noch angedeutete

Bildung von in Gruppen auftretenden Potentialen analog der Ausgangskurve erkennen läßt, noch erhalten. Das Cardiazol aktiviert nun das reduzierte Bild so, daß eine weitgehende Annäherung an die Norm eintritt. Neben der Aktivierung der Zwischenstücke werden auch die Gruppen wieder hervorgehoben. (Differenzen der einzelnen Streifen sind durch veränderten Papierschub infolge der häufigen Netzschwankungen bedingt.) Die Cardiazolwirkung war von nachhaltiger Dauer. Eine anschließend durchgeführte Äthernarkose verlief wie bei einem frischen Tier.

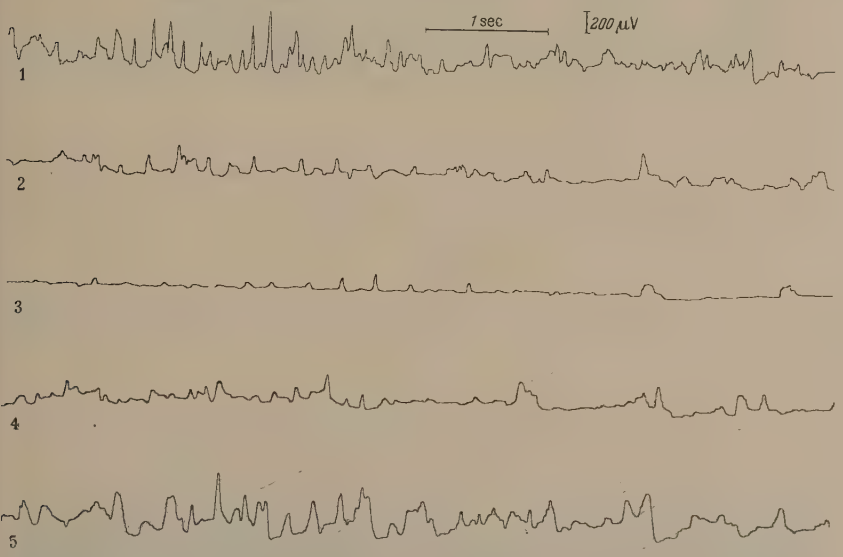


Abb. 2. Katze ♀, 2,5 kg, 150 mg Evipan i. p. 1. Ausgangskurve. Normalbild mit periodischer Anhäufung steilerer Abläufe. RR 130 mm Hg. — Kornealreflex +. 2. Nach 200 mg Luminal i. v. Allgemeine Amplitudenverminderung. Gruppenbildung eben angedeutet. RR 115 mm Hg. — Kornealreflex —. 3. Nach 2 × 125 mg und 2 × 250 mg Coramin i. v. Spannungsproduktion nach jeder Coramin-Einzelinjektion vermindert. Abbildung gibt den Endzustand wieder. RR: stetiger Abfall bis auf 70 mm Hg. — Kornealreflex —. 4. Nach 100 mg Cardiazol i. v. Sofortige Aktivierung. RR 70 mm Hg. — Kornealreflex noch —. 5. Nach weiteren 2 × 100 mg und 2 × 50 mg Cardiazol i. v. Gesteigerte Aktivität. RR um 70 mm Hg. — Kornealreflex schwach +.

Ganz anders gestaltet sich unter den gleichen Bedingungen die Coraminwirkung (Abb. 2). Die durch Luminal verminderten Potentialschwankungen werden durch Coramin noch weiter reduziert. Dies ist der hirnelektrische Ausdruck für die Narkoseverlängerung, die wir bei tiefer Barbitursäurenarkose nach Coramin gesehen haben (Hahn[13]). Recht bemerkenswert dürfte es aber sein, daß die durch Coramin weiter reduzierte Spannung durch eine nachfolgende Cardiazolinjektion sofort wieder zu reaktivieren war und durch weitere Cardiazolzufuhr noch mehr intensiviert werden konnte. Der aktivierende Einfluß des Cardiazols ist auch aus folgendem Grunde von Wichtigkeit: unter Coramin war der

Blutdruck stärker abgefallen. Es ist der Einwand möglich, daß darauf auch die hemmende Wirkung des Coramins auf das EEG zu beziehen sei. Dies wird aber dadurch widerlegt, daß sich der Cardiazoleffekt ohne Ansteigen des Blutdrucks vollzog. (Bezüglich der Blutdruckwirkung des Cardiazols bei Barbitursäure vgl. Hahn, Plester und Rummel[14].)

Auch in tiefer Prominalnarkose ist eine Reaktivierung der Hirnpotentiale mit deutlicher Annäherung des Bildes an die Norm durch Cardiazol erzielbar. Coramin verhielt sich gegenüber Prominal wie gegenüber Luminal, weshalb von einem Versuchsbeispiel abgesehen sei.

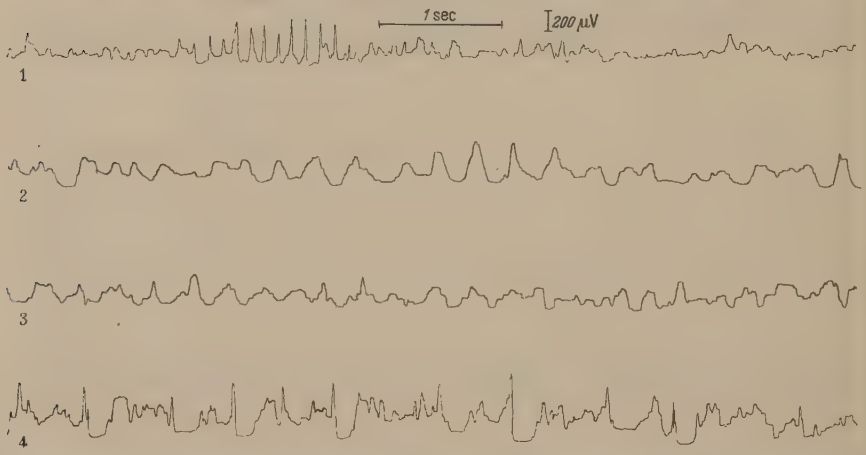


Abb. 3. Katze ♀, 2,65 kg, 150 mg Evipan i. p. 1. Ausgangskurve. Normalbild mit schön ausgeprägten Gruppen steiler Wellen. Kornealreflex +. 2. Nach Ätherbeatmung. Große träge Wellen. Kornealreflex −. 3. Nach 60 + 90 + 50 mg Cardiazol i. v. Bild wieder unruhiger, aber Narkosewellen noch vorhanden. Kornealreflex +. 4. Nach zusätzlich 100 mg Cardiazol i. v. Narkosewellen verschwunden. Stärkere Aktivierung rascherer Wellen, aber dazu Auftreten von Krampfströmen (spikes und waves in ziemlich dichter Aufeinanderfolge). RR während des ganzen Versuches ziemlich konstant um 180 mm Hg.

Ganz anders gestaltete sich nun die Weckwirkung des Cardiazols bei Äthernarkose. Allgemein ist bekannt, daß die Äthernarkose nicht so gut auf Cardiazol anspricht (Biehler[15], Jackson[16]). Bei der Besprechung unserer hirnelektrischen Befunde muß zunächst die charakteristische Wirkung des Äthers auf das Hirnstrombild hervorgehoben werden. Es kommt hier — anders als bei den Barbitursäuren — nicht nur zu einer Reduktion des Normalbildes, sondern zu einer Umformung der Potentialschwankungen in große, träge Wellen (vgl. hierzu Brain und Strauss[21]). Das Cardiazol bewirkt zwar eine gewisse Belebung dieses Bildes, aber noch ehe es bei weiterer Cardiazolzufuhr zu einer angenäherten Normalisierung kommt, tritt das hirnelektrische Krampfbild in Erscheinung. Die allgemeine Tatsache, auf die wir schon früher hingewiesen haben, daß schlecht weckbare Narkosen auch einen geringen krampfhemmenden Ein-

fluß auf das entsprechende Analeptikum haben, kann also auch hier festgestellt werden. Für den Äther hat schon BIEHLER[15] auf die geringe krampfhemmende Wirkung gegenüber Cardiazol hingewiesen. Blutdruckveränderungen spielten bei den hier wiedergegebenen Ätherversuchen keine Rolle.

Die Wirkung des Coramins auf die Äthernarkose unterschied sich vom Cardiazoleffekt dadurch, daß überhaupt keine Beeinflussung der Narkosewellen eintrat, weder in Richtung des Normalzustandes (Aktivierung),

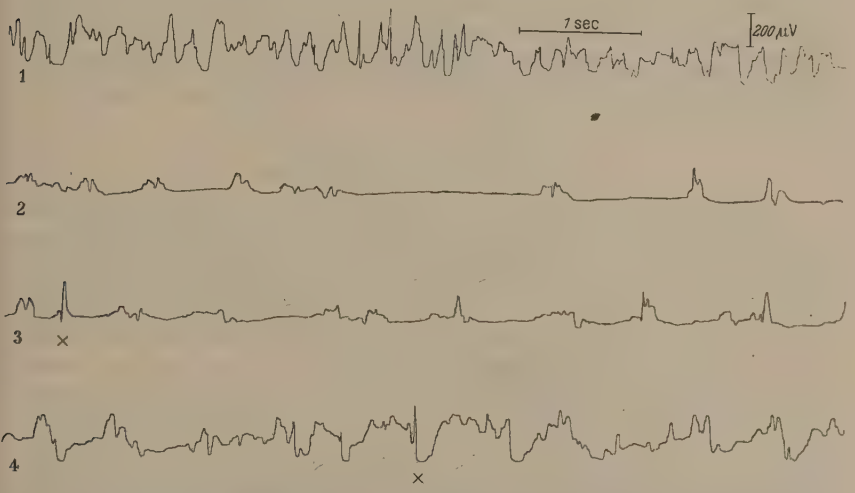


Abb. 4. Katze ♀, 2,3 kg, 150 mg Evipan i. p. 1. Ausgangskurve. RR 100 mm Hg. — Kornealreflex +. 2. Nach 225 mg Chloralose i. v. Sehr starke Reduktion mit großen ruhigen Zwischenstrecken. RR 100 mm Hg. — Kornealreflex —. 3. Nach 50 mg Cardiazol i. v. Keine nennenswerte Aktivierung. Auftreten einzelner spikes (×). RR 120 mm Hg. — Kornealreflex. 4. Nach 4 × 50 mg Cardiazol i. v. zeigt das Tier krampfartige Zuckungen, ohne daß im EEG die Phase einer annähernden Normalisierung erreicht war. Im EEG sind in größeren Abständen regelmäßig rasche Steilabläufe mit trägen Nachschwankungen eingestreut (×), die als spikes mit waves aufzufassen sind. RR 120 mm Hg. Kornealreflex.

noch in Richtung auf ein Krampfbild. Trotzdem bestanden im vorliegenden Falle schon deutliche krampfhafte Zuckungen. Aber dies entspricht völlig den in der vorausgehenden Arbeit[1] niedergelegten Verhältnissen. In gewisser Hinsicht ähnlich wie gegenüber Äthernarkose gestaltet sich der Cardiazolantagonismus gegenüber Chloralosenarkose. Auch dieser Antagonismus ist im Weckversuch schlecht ausgeprägt (HESS[17], HAHN[2]). Im EEG (Abb. 4) fällt zunächst die starke Reduktion trotz verhältnismäßig geringer Dosierung (70 mg/kg) auf, worauf wir[1] früher schon hingewiesen haben. Das Bild erscheint aber auch qualitativ verändert. Die Erregungsbildung hat keinen rhythmischen Charakter mehr, sondern ist von langen, unregelmäßigen Pausen durchsetzt. Blutdruckeffekte spielen bei der geringen Dosierung keine Rolle. Wie beim

Äther bewirkt auch hier das Cardiazol keine auch nur angedeutete Normalisierung. Hier treten sogar bei der ersten Cardiazolspritze Krampfpotentiale in Erscheinung, die zwar spärlich sind, aber regelmäßig wiederkehren. Auch bei hoher Cardiazoldosierung werden die spikes nicht häufiger, aber es treten träge Nachschwankungen (waves) hinzu. Erst bei höherer Dosierung kommt auch eine allgemeine, dysrhythmische Aktivierung zustande, die das Normalbild aber nicht erreicht. Jedenfalls ist das Wesentliche wie beim Äther auch hier, daß Krampfströme auftreten, ohne daß ein Normalzustand durchlaufen wird. Die dargestellte Wirkung des Cardiazols auf die Chloralosenarkose entspricht ganz dem leichten Auftreten von Krämpfen bei solchen Versuchen, auf das schon Gremels[18], Hess[17], Hahn[2] u. a. hingewiesen haben.

Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Befunde stimmen gut überein mit den pharmakologischen Grundphänomenen der Weckwirkung (sowohl hinsichtlich des Unterschiedes zwischen Cardiazol und Coramin, als auch hinsichtlich der ungleichen Weckwirkung des Cardiazols gegenüber sogenannten Rinden- und Stammhirnnarkotika); es fragt sich, wie sie zu deuten und welche Schlußfolgerungen für die Theorie der Weckwirkung aus ihnen zu ziehen sind. Schwierigkeiten ergeben sich dann, wenn wir dem Wechselspiel zwischen Narkotika und Analeptika die gewohnten lokalisatorischen Vorstellungen zugrunde legen; denn es bleibt dann unklar, wie an Hand der elektrischen Rindenpotentiale solche Vorgänge erfaßt werden, die vornehmlich subkortikal verlaufen. Dies trifft vor allen Dingen für den auch im EEG so gut ausgeprägten Antagonismus zwischen Cardiazol und Barbitursäuren zu. Man müßte dann schon annehmen, daß sich dieser Antagonismus auch in der Hirnrinde abspielt. Dann erfordert aber die fehlende Wirkung des Cardiazols bei den Rindennarkotika die Hilfsannahme, daß diese an einem anderen Substrat in der Hirnrinde angreifen als die Stammhirnnarkotika. Man könnte zugunsten dieser Version auf das verschiedenartige Bild hinweisen, daß beide Arten von Narkotika im EEG hervorrufen.

Es erscheint uns aber befriedigender, wenn man aufbaut auf der Auffassung, daß das elektrische Geschehen in der Hirnrinde aus subkortikalen Schichten erregt wird (Berger[19]). Dann lassen sich unsere Befunde folgendermaßen deuten: Wenn durch Barbitursäure der vom Stammhirn ausgehende aktivierende Einfluß auf die Rindenpotentiale gehemmt ist, vermag das Cardiazol durch Wiederherstellung einer normalen Stammhirntätigkeit die Rindenpotentiale zu reaktivieren. Wird aber durch Rindennarkotika das bioelektrische Geschehen in der Rinde selbst, wie wir gesehen haben, erheblich umgeformt, so vermag das

Cardiazol in diesen Prozeß nicht mehr normalisierend einzugreifen. Vielmehr trifft es im Stammhirn auf ein in seiner Erregbarkeit nur wenig verändertes Substrat und löst hier Potentiale aus, die zur Rinde fortgeleitet werden und sich dem elektrencephalographischen Narkosebild als Krampfströme überlagern. Beim Antagonismus gegenüber Barbitursäure kann jedoch das Cardiazol von dem gedämpften Stammhirn aus erst dann zu Krämpfen führen, wenn dort vorher ein Stadium reaktivierter elektrischer Tätigkeit durchlaufen war, die bei höherer Krampfgiftdosis im präkonvulsiven Stadium wieder reduziert wird, worauf erst Krampfpotentiale erscheinen. Bezüglich des Coramins stehen unsere Befunde in scheinbarem Gegensatz zu SCHEURER[20], die sowohl bei Äther als auch bei Evipannarkose stets eine Normalisierung der Hirnpotentiale bei Katzen angibt. Da Coramin nur in leichter Narkose Weckwirkung hat, erklärt sich dieser Gegensatz sicher dadurch, daß wir mit tieferer Narkose arbeiteten.

Zusammenfassend dürfen wir feststellen, daß unsere Vorstellungen über die Angriffspunkte von Narkotika und Analeptika sich durchaus mit den elektrencephalographischen Tatsachen vereinigen und durch weiteres Studium sicher noch vertiefen lassen.

Zusammenfassung.

1. Die Weckwirkung des Cardiazols gegenüber Barbitursäuren (Luminal und Prominal) stellt sich im EEG der Katze als Aktivierung und Normalisierung gehemmter Rindenpotentiale dar. Coramin führt zu einer zusätzlichen Unterdrückung der Rindenpotentiale, die durch Cardiazol auch wieder rückgängig gemacht werden kann.

2. In Äthernarkose führt Cardiazol nur zu einer mäßigen Aktivierung der Spannungsschwankungen, die hier eine starke narkotische Umformung in langsame Wellen aufweisen. Frühzeitig treten Krampfströme auf. Coramin hat bei dieser Narkose keinen Einfluß auf das EEG, bei konvulsiven Dosen fehlen auch die Krampfströme. Die durch Chloralose stark reduzierten und verformten Spannungsabläufe werden durch Cardiazol ebenfalls frühzeitig mit Krampfströmen durchsetzt, ohne daß ein Stadium der Normalisierung durchlaufen wird.

3. Die Befunde lassen sich zu der Annahme in Beziehung bringen, daß die Barbitursäuren vom Stammhirn aus auf das EEG dämpfend wirken, während das Cardiazol durch Wiedererweckung des Stammhirns indirekt zu einer Normalisierung der Rindenpotentiale führt. Wenn aber durch sogenannte Rindennarkotika (Äther und Chloralose) das vom Stammhirn induzierte bioelektrische Geschehen in der Rinde selbst umgeformt wird, hat das am Stammhirn angreifende Cardiazol hierauf keinen Einfluß. Es löst vielmehr vom nicht gedämpften Zwischenhirn frühzeitig Krampfpotentiale aus, die zur Rinde durchschlagen.

Literatur.

[1] Driesen, W., F. Hahn, u. W. Rummel: Dtsch. Z. Nervenheilk. **164**, 395 (1950). — [2] Hahn, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D) **205**, 552 (1948). — [3] Driesen, W., u. H. Steinmann: Zbl. f. Neurochirurgie (im Druck). — [4] Schaefer, H.: Elektrophysiologie, Bd. 2. Wien 1942. — [5] Kornmüller, A. E.: Klinische Elektrencephalographie. München 1944. — [6] Hahn, F., u. W. Rummel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D) **209**, 325 (1950). — [7] Fulton, J. F.: The Physiology of Nervous System. Oxford University Press 1943. — [8] Walton, P.: Arch. internat. Pharmacodynamie **46**, 97 (1930). — [9] Gierlich, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D) **187**, 129 (1937). — [10] Barenque, O.: Accion méd. Mexiko, 1940. — [11] Koppanyi, Th., Ch. R. Linegar, u. J. M. Dille: J. of Pharmacol. **58**, 199 (1936). — [12] Palme, U.: Diss. Düsseldorf 1948. — [13] Hahn, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D) **202**, 165 (1943). — [14] Hahn, F., D. Plester, u. W. Rummel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 223 (1950). — [15] Biehler, W.: Arch. exper. Path.u. Pharmakol. (D) **176**, 696 (1935). — [16] Jackson, E.: Labor. a. clin. Med. **20**, 1 (1934). — [17] Hess, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D) **197**, 204 (1941). — [18] Gremels, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D) **153**, 36 (1950). — [19] Berger, H.: Naturwissenschaften 1935, 121. — [20] Scheurer, G.: Diss. Freiburg 1938. — [21] Brain, W. R., u. E. B. Strauss: Recent advances in Neurology and Neuropsychiatrie. S. 55. London 1946.

Dr. Wilhelm Driesen,
Max-Planck-Institut für Hirnforschung Bochum-Langendreer.
Prof. Dr. Fritz Hahn und Dr. Walter Rummel,
Pharmakologisches Institut der Mediz. Akademie Düsseldorf.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 251—254 (1951).

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Marburg/Lahn
(Direktor: Professor Dr. H. Schmidt).

Untersuchungen über das Blut der Ratte.

Von

K.-H. Büsing und W. Gruchmann.

(Eingegangen am 27. Februar 1950.)

Im Rahmen von Stoffwechseluntersuchungen, über welche am Ort berichtet werden wird, wurden von uns Erhebungen über gewisse morphologische und chemische Bestandteile des normalen Rattenblutes angestellt.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf die Ermittlung folgender Werte: Hb.-Gehalt, Leukozytenzahl, prozentuales Verhältnis der Leukozytenarten, Retikulozytenzahl, Gesamteiweiß-, Albumin-, Globulin- und Reststickstoff-Gehalt des Serums, Nachweis von Normalhämolysinen, Normalpräzipitinen und Normalagglutininen des Rattenserums gegenüber Hammel-Erythrozyten. Die Untersuchungen wurden an jungen, 4—5 Wochen alten schwarzen Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 55 g (45—60 g) ausgeführt. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten und normal ernährt.

Die *Blutentnahme* erfolgte im Ätherrausch durch Herzpunktion mit V_2A-Kanülen Gr. 18. Hierbei können 0,5 cm^3 Blut ohne Schaden entnommen werden. Die Gefahr der Herztamponade ist bei hinreichender Übung gering. Man ergreift die Tiere mit Daumen und Zeigefinger der linken Hand am Nackenfell, rafft mit den übrigen Fingern das Rückenfell und preßt es gegen den Daumenballen, so daß der Rumpf völlig fixiert ist. Die bei diesem Vorgehen eintretenden Verluste durch Herzzerreißungen bleiben unter 10%. — In allen Fällen, wo Blutentnahmen an ein und demselben Tier nicht in allzu kurzen Zeitabständen wiederholt zu werden brauchen, empfiehlt sich die Blutentnahme durch Herzpunktion. Aber selbst bei mindestens 2—3tägigen Abständen ist diese Art der Blutentnahme vorzuziehen. Die Untersuchung des Schwanzblutes bringt stets durch die dabei notwendigen Manipulationen (Erwärmen, Reiben, Anwendung von hyperämisierenden Chemikalien usw.) und den durch Kupieren gesetzten Entzündungsreiz die Gefahr von Fehlergebnissen mit sich. So werden hierdurch z. B. große, „normale" Schwankungsbreiten vorgetäuscht oder Blutbildveränderungen fälschlich einer pathologischen, toxikologischen oder therapeutischen Einwirkung zugeschrieben, die in Wirklichkeit rein lokal bedingt sind (vgl. W. Rodewald).

1. Hämoglobin-Gehalt.

Die Bestimmung erfolgt mit einem auf 80 Sahli-Einheiten als „Normalwert" geeichten Sahli-Hämometer.

Zahl der Bestimmungen:	39	
Hämoglobin	in Sahli-Einh.	ber. auf g%
Gesamtdurchschnitt:	80,4	16,1
Schwankungsbreite:	60—93	12,0—18,6
Schwerpunkt der Häufigkeit (29 von 39 Best.):	77—88	15,4—17,6
Korrigierter Durchschnitt:	82,7	16,5

2. Leukozytenzahl.

Verdünnung in den üblichen Leukozyten-Mischpipetten mit 1% iger Eisessiglösung 1 : 20; Auszählung in der Thoma-Zeissschen Zählkammer (volle Auszählung aller Quadrate) mit 3maligem Wechsel der Kammerfüllung.

Zahl der Bestimmungen:	37
Gesamtdurchschnitt:	9093 Leukozyten/mm³
Schwankungsbreite:	4600—18600 Leukozyten/mm³
Schwerpunkt der Häufigkeit:	5000—10400 Leukozyten/mm³ (26 von 37 Best.)
Korrigierter Durchschnitt:	7723 Leukozyten/mm³

3. Retikulozytenzahl.

Technik: Blutausstriche auf Objektträger, die mit Brillantkresylblau präpariert waren. Giemsa-Färbung. Die Auszählung der Retikulozyten erfolgte mittels Ehrlichschem Okular-Zählfenster. An 4 voneinander entfernt liegenden Stellen des Ausstrichpräparates wurden jeweils 500 Erythrozyten und die dabei anfallenden Retikulozyten ausgezählt. Die Auszählung der Retikulozyten erfolgte somit auf 2000 Erythrozyten, berechnet auf 1000 Erythrozyten.

Zahl der Bestimmungen:	15	
Gesamtdurchschnitt:	16,65‰	
Schwankungsbreite:	12—28‰	
Schwerpunkt der Häufigkeit:	12—20‰	(14 von 15 Best.)
Korrigierter Durchschnitt:	15,85‰	

4. Das weiße Differentialblutbild.

Blutausstriche nach Pappenheim gefärbt.

Zahl der Bestimmungen:	45
Gesamtzahl der in jedem Präparat ausgezählten Leukozyten:	300

Tabelle 1.

	Stab	Segm.	Lympho	Mono	Baso	Eo
Durchschnitt . . . . .%	1	28,5	66,5	3,0	0,5	0,5
Schwankungsbreite . .%	0—2,3	24.4—31	64—71	2,2—4	0—1	0—1

5. Serumeiweiß-Gehalt.

Zur Bestimmung des Serumeiweiß-Gehaltes und der Albumin- und Globulin-Fraktion wurde jeweils ein Mischserum verwendet, in dem gleiche Mengen Serum (jeweils 0,1 cm³) von 15 Ratten miteinander vermischt wurden. Jede der nachfolgend aufgeführten Bestimmungen entspricht demnach einem Durchschnitt aus 15 Serumproben. Die individuelle Schwankungsbreite ist demnach nicht angebbar, sondern lediglich diejenige der Kollektive.

Zur Bestimmung des Gesamteiweißes wurden 0,1 cm³ des betreffenden Mischserums kjeldahlisiert, der Verbrauch an vorgelegter n/50 HCl bestimmt und nach Abzug des gleichzeitig bestimmten Rest-N auf Gesamteiweiß berechnet.

Zur Bestimmung der Albumin- und Globulin-Fraktion wurden nach Howe aus 0,2 cm³ Mischserum in 6 cm³ 22,2%iger Na-Sulfatlösung bei 37° die Globuline gefällt und nach 10 Std Brutschrankaufenthalt durch ein Faltenfilter Schleicher und Schüll Nr. 605h klar filtriert. Von dem Filtrat wurde 1 cm³ kjeldahlisiert und aus dem n/50 HCl-Verbrauch der Albumin-Anteil berechnet. — Der Globulinstickstoff wurde aus der Differenz von Eiweiß-N und Albumin-N berechnet.

Die Durchschnittswerte von insgesamt 6 Bestimmungen, in denen jeweils ein Mischserum von 15 Ratten geprüft wurde, waren folgende:

Tabelle 2.

	Gesamt-N	Rest-N	Eiweiß-N	Albumin-N	Globulin-N	Gesamt-Eiweiß	Albumin	Globulin	Qu.
1.	890,2	22,5	867,7	565,2	302,5	5,42	3,53	1,89	1,87
2.	915,4	19,1	896,3	601,3	295,0	5,50	3,76	1,74	2,16
3.	921,4	25,2	896,6	585,2	311,4	5,54	3,66	1,88	1,95
4.	870,8	21,2	849,6	572,9	276,7	5,31	3,58	1,73	2,06
5.	987,6	23,0	964,6	651,3	313,3	6,17	4,07	2,10	1,94
6.	843,7	19,5	824,2	569,1	255,1	5,15	3,56	1,59	2,24

6. Untersuchung auf Normal-Antikörper gegen Hammel-Erythrozyten.

Es ließen sich nach den üblichen Methoden im Serum der jungen Ratten keine Normal-Präzipitine gegen Hammelserum-Eiweiß sowie auch keine Normal-Hämolysine und -Agglutinine gegen Hammel-Erythrozyten nachweisen.

Tabelle 3. *Gesamtübersicht der erhaltenen Ergebnisse über Blutbestandteile bei jungen normalen Ratten.*

	Eigene Ergebnisse		Klieneberger-Carl	Rodewald
	Durchschnitt	Schwankungsbreite		
Hb %	85,65	77—88	80—129	—
Leukozyten/mm³	7723	5000—10400	5800—29800	—
Stab	1%	0—2,3%	0— 3%	0,6—0,7%
Segment	28,5%	24,4—31%	16—40%	19,7—27 %
Lympho	66,5%	64—71%	65—80%	66—72,8%
Mono	3,0%	2,2— 4%	0— 2%	0,5—1,8%
Eo	0,5%	0— 1%	0— 6%	2,3—2,7%
Baso	0,5%	0— 1%	0— 0,5%	0—0,1%
Retikulozyten	15,85%	12—20%	—	—
Gesamt-N	904,9 mg%	843,7—987,6 mg%	—	—
Rest-N	21,7 „	19,1— 25,2 „	17,5—23,8 mg%	—
Eiweiß-N	883,2 „	824,2—964,6 „	—	—
Albumin-N	590,8 „	565,2—651,3 „	—	—
Globulin-N	292,4 „	255,1—313,3 „	—	—
Gesamteiweiß	5,52%	5,15—6,17%	7,18—7,83%	—
Albumin	3,69%	3,53—4,07%	—	—
Globulin	1,83%	1,59—2,10%	—	—
Albumin/Globulinquotient	2,01%	1,87—2,24%	—	—
Normal-Hämolysine	gegen Hammel-Erythrozyten		negativ	
Präzipitine	gegen Hammel-Erythrozyten		negativ	
Agglutinine	gegen Hammel-Erythrozyten		negativ	

Literatur.

[1] Howe, P. E.: J. of biol. Chem. **49**, 109 (1921). — [2] Klieneberger-Carl: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, 2. Aufl. Leipzig 1927. — [3] Rodewald, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 437 (1948).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 255—267 (1951).

Aus der Chirurgischen Klinik Heidelberg, und dem Institut für medizinische Forschung, Heidelberg.

Über die Aufnahme von Ortho- und Pyrophosphat durch die Herzmuskelzelle, geprüft mit Radiophosphor ^{32}P*.

Von

Oskar Eichler** und Kurt Schmeiser.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1950.)

Es ist bekannt, daß o-Phosphat nicht durch einen einfachen Diffusionsprozeß in die Zellen des Muskels eindringt, sondern daß ein biologischer Vorgang damit verbunden sein muß.

Zum eingehenderen Studium solcher Fragestellungen hat sich die Verwendung radioaktiver Stoffe in der Tracertechnik als sehr nützlich erwiesen. Für die Aufnahme von Phosphat in die Zelle von Skelett- und Herzmuskel sind vor allem die Untersuchungen von Sacks[1] zu erwähnen. Hiernach wird ^{32}P in der Zellwand zuerst einer Phosphorylierung, einem Einbau in Hexose-6-phosphat unterzogen, ehe es ins Innere gelangt und dem Spiel des Stoffwechsels überantwortet wird.

Unser Vorhaben ging dahin, die Gesetzmäßigkeiten der Aufnahme von ^{32}P durch das Verschwinden aus der Umgebung herzuleiten. Da eine Reaktion mit der Oberfläche zu erwarten war, sollten neue Daten über die Reaktionsfähigkeit der Zellgrenzen und ihren Aufbau erhalten werden.

Methodik.

Für unsere Untersuchungen schien uns der isolierte, in gleichmäßigen Zeitabständen gereizte Ventrikel des Froschherzens besonders geeignet. Das so vorliegende Versuchsobjekt ist nahezu unbelastet mit anderen Geweben als den Herzmuskelzellen. Diese sind fast gar nicht geschützt durch eine Zellage und ein Raumsystem, das extravasal ist, aber noch nicht zu den Zellen gehört. Durch die Bewegungen des Herzens zirkuliert die Speiseflüssigkeit in sämtlichen Spalten des Organs, so daß eine mögliche Reaktion an den Zelloberflächen unbehindert und rasch eintreten kann. Zudem lagen schon eine Reihe von Beobachtungen vor[2, 3], an die angeknüpft, und die erweitert werden konnten.

Die das Herz tragende Kanüle war eingebaut in ein doppelwandiges Gefäß, so daß die Anwendung verschiedener Temperaturen möglich war. Wir wählten 5° und 25°, um eventuelle Ausschläge möglichst groß werden zu lassen. Die Reize durch Kondensatorentladungen erfolgte nur alle 5—6 sec, damit auch bei 5° das langsamer schlagende, vor allem träger erschlaffende Herz folgen konnte.

* Herrn Prof. K. H. Bauer zum 60. Geburtstag zugeeignet.

** Mit Unterstützung der Stiftung für Krebs- und Scharlachforschung.

Die Speiseflüssigkeit war eine Ringerlösung mit der üblichen Zusammensetzung: 0,02% $CaCl_2$, 0,01% KCl und 0,01% $NaHCO_3$. Dieser Lösung wurden verschiedene Konzentrationen des markierten Phosphats zugesetzt. Vor der Beschickung der Herzkanüle mit dieser Lösung erfolgte stets eine 3malige, bei Pyrophosphat eine 6malige Spülung des Herzens mit Ringerlösung, um die letzten Plasmareste und damit etwa vorhandenes inaktives Phosphat und die noch vorhandenen oder löslichen Phosphatasen[3] mit einiger Sicherheit zu beseitigen.

Das Herz schlug zu Beginn des Versuchs mit einem Druck von 4 cm Wasser. Dieser Druck hatte sich schon früher[3] als optimal für die Heranbeförderung der Speiseflüssigkeit ergeben. Mit Blutzuckerpipetten, deren Inhalt mit Hg ausgemessen war, wurden in geeigneten Zeitabständen Proben zur Analyse — in den entscheidenden Punkten und Versuchen jeweils 2 — entnommen und die Radioaktivität im Geiger-Müller-Zählrohr gemessen. Bei längeren Versuchen nahm die Flüssigkeit in der Kanüle etwas ab. Das wurde bei der Auswertung der Meßergebnisse berücksichtigt. Da bei der Einfüllung der die Aktivität enthaltenden Lösung stets ein Rest im Herzen zurückblieb, der eine Verdünnung der radioaktiven Lösung verursacht und damit eine Aufnahme durch das Herz vortäuschen konnte, wurden eingehende Versuche über diesen Verdünnungseffekt und zwar durch Kongorot (siehe folgende Arbeit) und gleichzeitig mit Pyrophosphat zu chemischer Bestimmung in ausreichender Konzentration angestellt. Der Effekt übertraf meist nicht die natürliche Fehlergrenze und wurde im übrigen, wenn notwendig, berücksichtigt. Die Versuche wurden vom Januar bis März 1949 ausgeführt.

Der radioaktive Phosphor ^{32}P wurde durch Beschuß von Schwefelkohlenstoff mit schnellen Neutronen hergestellt, die durch Bestrahlung von Beryllium mit Deuteronen im Heidelberger Zyklotron entstanden. Der Schwefel wandelt sich in radioaktiven Phosphor um. Ein anderes Herstellungsverfahren verbot sich uns, weil jede Verunreinigung durch Metall, besonders Cu, wegen Gefahr der Schädigung des Herzens vermieden werden mußte. Der Schwefelkohlenstoff wurde einfach mit Wasser ausgeschüttelt, dem Spuren von Na_2HPO_4 zugesetzt war. Das ist der üblichen, in der Literatur (auch bei Kamen[4]) zu findenden Vorschrift mit verdünnter Salpetersäure vorzuziehen. Denn mit verdünnter Salpetersäure ergibt sich reichliche Ausscheidung von Schwefel, die die Trennung stört. Sehr viel Mühe machte uns die Beimengung kleiner Mengen von Eisen, die eine Senkung des Zusatzes unter 0,184 γ ^{31}P je cm^3 verbot. Reinigung des Schwefelkohlenstoffes durch mehrmalige Fraktionierung über eine lange Kolonne unter einer Schicht von Wasser vor der Neutronenbestrahlung ist notwendig.

Die Aufnahme im Verlauf der Zeit und der Temperaturkoeffizient.

Der Verlauf der Aufnahme geben wir auf Abb. 1 bei einer Vorlage von nur 0,184 γ P/cm^3 bei Beginn des Versuchs.

Die Messungen sind für die beiden Temperaturen 5° und 25° durchgeführt worden. Es ist deutlich ersichtlich, daß die P-Aufnahme bei 25° durchweg größer ist als bei 5°. Bei Beginn des Versuches bis etwa nach 1 Std ist dieser Temperatureinfluß noch zu vernachlässigen, weil sich andere Prozesse, wie wir noch sehen werden, überlagern. In der zweiten Stunde jedoch erhalten wir durch Vergleich der Aufnahmegeschwindigkeit einen Temperaturkoeffizienten Q_{10} von etwa 1,57. Dieser ist für einen chemischen Vorgang sehr klein, wenn er auch ungefähr den Werten entspricht, die früher[3] für die Pyrophosphatspaltung erhalten wurden.

die aber einem einfachen fermentativen Vorgang angemessen wären. Wir könnten ihn auf den aktiven Prozeß der Phosphataufnahme nach SACKS[1] beziehen, der nach den Versuchen von WILBRAND bei Erythrozyten einen sehr hohen Koeffizienten besitzt, der sich allerdings erst bei Temperaturen bei 25—37° voll auswirkt. Es mögen noch Störungen unbekannter Art hineinspielen, von denen wir hier nur aufzählen: 1. die primäre Bindung an der Oberfläche, die von der Temperatur als solcher nicht beeinflußt wird. 2. die veränderte Herzmechanik bei 5° mit ihrem mehr systolischen, trägen Verlauf kann den Zugang zu den reagierenden Oberflächen vermindern. Damit würde der zuerst genannte Vorgang in die zweite Stunde hineinreichen und den Nenner in Q_{10} vergrößern.

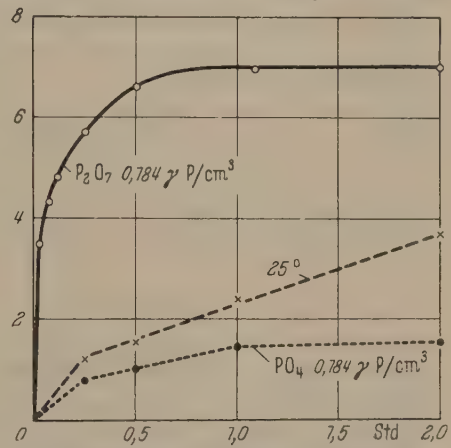


Abb. 1. Abszisse: Zeit in Stunden, Ordinate: Aufnahme. γ P/g Herz Ausgangskonzentration 0,184 γ P/cm³ Kurven-Durchschnitt von 4 und 6 Herzen ●——● PO_4 bei 5°, +——+ PO_4 bei 25°, o——o P_2O_7 bei 25°.

Um sicher zu gehen, haben wir nunmehr in mehreren Versuchen das Herz bei 5° mit der üblichen, P^{32}-markierten Lösung beschickt und einige Stunden schlagen lassen, bis keine Phosphat-Aufnahme mehr erfolgte und dann die Temperatur im Verlauf von 20—30 min auf 25° erhöht. Mit der Temperatursteigerung fanden wir eine deutliche weitere Aufnahme von Phosphat, die allerdings nicht lange anhielt.

Wir geben ein Zahlenbeispiel.

Bei der Versuchstemperatur von 5° wurde nach 7 Std kein Phosphat mehr aufgenommen. Nach Erhöhung der Temperatur auf 25° waren es jedoch in der ersten Stunde 0,0042 γ P/g/min, in der zweiten 0,0023 γ P/g/min, in der dritten Stunde nur noch 0,00176 γ P/g/min.

Man könnte daran denken, dieses Ergebnis folgendermaßen zu erklären:

Die innerhalb der Muskelzelle vorhandenen Phosphate werden sich hinsichtlich ihrer Aktivität allmählich ausgleichen. Nach Analysen von CLARK u. EGGLETON[5] sowie denen von MÜGGE[6], die sich ergänzen, sind in einem Herzen von 50 mg (wie das bei uns mindestens der Fall war) 15,1 γ Phosphor als o-Phosphat, Kreatin-Phosphat und „Pyrophosphat" vorhanden, die in unmittelbarem Austausch miteinander stehen. In unseren Versuchen waren durchschnittlich 0,736 γ P in der Vorlage, davon wurde nur ein kleiner Bruchteil tatsächlich vom Froschherzen aufgenommen, selbst bei einer Versuchszeit von 12 und mehr Stunden. Von einer Annäherung an ein Gleichgewicht im obigen Sinne kann demnach keine Rede sein. Bei dieser Abschätzung ist noch gar nicht einmal berücksichtigt, daß der säurelösliche Gesamt-P bei dem Standardherzen 84,5 γ beträgt. Nach SACKS[1] haben manche

Teile dieser Fraktion sogar eine höhere spezifische Aktivität als selbst o-Phosphat. Dazu kommt noch die Menge der anderen Phosphatfraktionen, die den See (pool), in dem sich die kleinen Mengen des aktiven Phosphats der Kanüle verlieren könnten, noch weiter vergrößert. Diese eben gemachte Erklärung kann also zur Deutung unserer Ergebnisse nicht genommen werden. Wir müssen demnach nach einem anderen Vorgang Ausschau halten.

Es gelingt nicht, den Temperaturkoeffizienten bei höheren vorgelegten Konzentrationen wiederzufinden. Die Kurven nehmen dann dieselbe Form an, wie sie auf Abb. 1 bei Pyrophosphat gegeben wird, d. h. späterhin hört die Aufnahme auf, es bildet sich ein volles Gleichgewicht aus. Das ist jedoch keinesfalls auf ein Fehlen dieses aktiven Prozesses zu beziehen, sondern nur darauf, daß er eine begrenzte Kapazität besitzt. In unseren Versuchen wurde pro Gramm Herz und Minute nur 0,008—0,04 γ P befördert. Etwa derselbe Wert ist auch bei der nächsthöheren Konzentration von 0,608 γ P/cm³ zu beobachten gewesen. Bei höheren Konzentrationen fällt er in den Bereich der Ungenauigkeit der Methodik. Nur so erklärt sich die Kurvenform bei den höheren Konzentrationen.

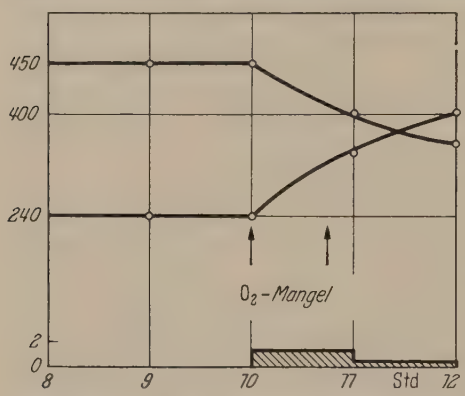


Abb. 2. Aufnahme von Phosphat durch den isolierten Froschventrikel, dem anfangs eine Konzentration von 40 γ P/cm³ angeboten wurde. Abszisse: Zeit in Stunden seit Beginn des Versuchs. Temperatur: 25°, Ordinate: oben: Aufnahme γ/g Herz bzw. Impulszahl im Zählrohr. unten: Aufnahmegeschwindigkeit in γ/g/Minute. Oberste Kurve: Verhalten der Aktivität bei Probeentnahmen. Mittlere Kurve: Aufnahme des Phosphats in das Herz pro Gramm gerechnet. Untere Kurve: Aufnahme γ/g/Minute. Mit der Anoxämie steigt die Aufnahme rapid an (siehe Text).

Beim Pyrophosphat ist das zugleich ein Hinweis auf die fehlende Penetration dieses Anions durch die Zellgrenzen. Wenn jedoch die von der Oberflächenphosphatase bewirkte Spaltung fortschreitet, muß sekundär die aktive Phosphataufnahme deutlich werden, wie es auf Abb. 4 sichtbar wird.

Störungen der Aufnahme.

Bei diesen Verhältnissen gibt es eine Reihe von Bedingungen, die das Phosphat aus der Kanüle rascher zum Verschwinden bringen. Darin besteht eine große Einförmigkeit, so daß wir es nicht für notwendig halten, alle Beispiele abzubilden. Wir haben folgende Zustände daraufhin geprüft:

1. Sinken des osmotischen Drucks.
2. Verschiebung der Azidität nach der sauren Seite.

Auf Abb. 3 ist das Gleichgewicht bei 2 derart behandelten Herzen wiedergegeben. Die Herzen erhielten eine Lösung mit dem p_H 6,9—7,0.

Dabei schlugen beide 1 Std mechanisch schwächer, aber die Schädigung war bei dem einen Herzen nicht so tiefgreifend, daß es durch Behandlung mit normalem RINGER nicht zur vollen Aktion hätte zurückgebracht werden können.

3. Anoxämie. Wir verweisen als Beispiel des Verlaufs auf Abb. 2.

Die schon seit Stunden sich nicht mehr ändernde Aufnahme steigt plötzlich an bei Sistieren der Durchlüftung. Zugleich wird die mechanische Aktivität schlechter, bessert sich aber nach Einschaltung der Durchlüftung. Die vermehrte Fähigkeit zur Phosphataufnahme aber bleibt noch — schwächer werdend — darüber hinaus bestehen.

Es ist unwahrscheinlich, daß es sich hier um eine Vergrößerung des vorher besprochenen aktiven Prozesses handelt. Dieser dürfte kaum durch eine Störung vermehrt werden, vor allem wird er einer Energielieferung bedürfen. Diese dürfte aber durch Sauerstoffmangel nicht verbessert, sondern nur verschlechtert werden. Es muß also ein neuer, noch nicht beschriebener Vorgang vorhanden sein, der einer besonderen Untersuchung bedarf.

Gleichgewichte und Deduktionen.

Bei unseren Untersuchungen haben wir eine größere Zahl von Konzentrationen angewandt, die nach demselben in Abb. 2 wiedergegebenen Modus durch die Zellen aufgenommen werden. Wenn nicht Störungen auftreten, macht sich dabei ein Gleichgewicht bemerkbar. Auf Abb. 3 trugen wir in halblogarithmischem Maßstab die Endkonzentrationen in der Kanüle gegen die pro Gramm Herz aufgenommenen γ P auf, diese unter der Voraussetzung berechnet, daß ^{31}P und ^{32}P vom Herzen nicht unterschieden werden können.

Der Gesamtverlauf der Kurve weist wiederum auf einen Prozeß der Adsorption hin. Keineswegs kann es sich dabei darum handeln, daß ein Ausgleich der Aktivität, die wir ja alleine messen, mit dem Phosphat innerhalb der Herzmuskelfaser stattfand. Bei den niederen Dosierungen ist das unmittelbar sichtbar, wie wir schon nach CLARKS Analyse oben abschätzten, selbst wenn wir nur einen Ausgleich mit dem anorganischen Phosphat der Zelle, auch nach MÜGGES Phosphagenindex zulassen würden. Bei höheren Konzentrationen käme man schon eher an die zu verlangenden Gleichgewichte, aber der Ausgleich wäre dann zu rasch, da er nicht langsamer erfolgt als bei den kleinsten Konzentrationen. Wir sehen dabei von dem aktiven Prozeß ab, der aber nur bei der kleinsten Konzentration sich störend bemerkbar macht und von uns durch die niedere Temperatur ausgeschaltet wurde.

Zur Illustration der Verhältnisse führen wir eine kleine Rechnung durch, indem wir voraussetzen, daß sich das Phosphat tatsächlich in Gleichgewicht mit bestimmten Fraktionen der Herzmuskelzelle setzt. Als Grundlage nehmen wir die Analysen von CLARK u. EGGLETON[5] und zwar einerseits das reine anorganische

Phosphat, andererseits zusätzlich die in engem Austausch stehenden Fraktionen des Phosphagens und Adenosintriphosphats. Die Aufnahme erfolgt rasch auch in den hier nicht genannten Fraktionen, nach SACKS z. B. in das Hexose-6-phosphat. Wenn wir jedoch die Umsatzzahlen von HEVESY, HAHN u. REBBE[7] zugrunde legen, die zwar den Froschmuskel betreffen, sich aber über die vielfachen Zeitintervalle erstrecken, wird der tatsächlich mögliche Umsatz in der Beobachtungszeit zwischen den von uns gewählten Grenzen liegen. Wir legen die Rechnung auf folgender Tab. 1 nieder.

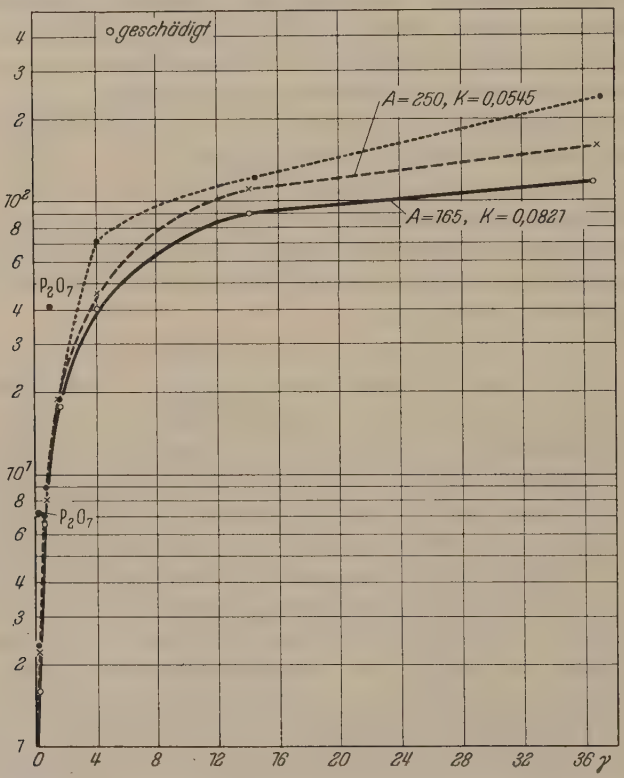


Abb. 3. Gleichgewichte zwischen Herz und Konzentration in der Kanüle. Jeder Punkt der Kurve bedeutet den Durchschnitt von je 3—6 Einzelversuchen. Ordinate: Die pro Gramm Herzmuskel aufgenommenen γ P im logarithmischen Maßstab. Abszisse: Endkonzentration in der Kanüle in γ P/cm³ ..... erhaltene Kurve o———o× — — — — — × durch Rechnung mit Endgleichgewicht und Gleichgewichtskonstante wie angegeben erhaltener Verlauf der LANGMUIRschen Isothermen. Die Einzelpunkte bedeuten die Aufnahme von P_2O_7 bei den zugehörigen Werten der Abszisse bzw. Durchschnitt von 2 geschädigten Herzen (näheres siehe Text).

Aus der Tab. 1 ist ohne weiteres die völlige Abweichung der berechneten von den erhaltenen Resultaten abzulesen. Ein Ausgleich kommt nicht in Frage.

Tatsächlich würde ein einfacher Ausgleich der Diffusion den bisherigen Erfahrungen widersprechen. Nach CLARK und EGGLETON[5] wird vom Froschherzen auch in 24 Std kein Phosphat in irgendeiner Form an den Kanüleninhalt abgegeben. Wenn eine Verbindung zwischen den beiden

Tabelle 1.

Ausgangskonzentration γ/cm³	0,184	0,608	0,704	1,68	4,97	16,0	40,0	12,4*
Soll/bei PO_4 anorg.	0,0206	0,18	0,230	0,90	3,38	14,7	38,6	11,1
Bei PO_4 anorg. + Kreatinphosphat + Adenosintriphosphat	0,0096	0,084	0,111	0,57	2,22	12,9	36,4	9,5 (4,63)
Tatsächliche Beobachtung	0,164	0,52	0,592	1,45	4,04	14,5	37,0	5,36

* 2 geschädigte Herzen.

Niveaus innerhalb und außerhalb der Kanüle besteht, dann kann das nur durch eine „Austauschdiffusion" (exchange diffusion), wie sie von Ussing[8] für Bewegungen von Na^+ in der Froschhaut in Betracht gezogen wird, geschehen. Phosphat würde danach sich in Form einer komplexen Bindung an einem Element der Zellgrenze verankern und mit den Wärmebewegungen könnte, analog einer Drehbühne, das Anion an die andere Seite der Grenze kommen und so die Gelegenheit erlangen, sich dem zellulären Stoffwechsel mitzuteilen. Man sieht, daß es durchaus ein anderer Vorgang ist als der anfangs erwähnte aktive Prozeß. Wenn solche Bewegungen möglich sind — und das Bild scheint plausibel — dann werden wir diese Austauschform immer dann annehmen können, wenn durch Lockerung der Struktur solche Drehbewegungen großer Einheiten der Zellwand möglich werden. Man wird für die gegenseitige Verankerung der Bausteine der Grenzstrukturen sowohl Wasserstoffbrücken, als auch van der Waalssche Kräfte annehmen dürfen (Astbury bei Myosin). Wenn sie in ihrer Wirksamkeit geschwächt werden, werden wir eine Beschleunigung dieses Austausches erwarten dürfen. So könnte man eine Erklärung für die vermehrte Aufnahme von ^{32}P nach den verschiedensten Schädigungen des Herzens versuchen.

Daß auch diese Vorstellung dafür nicht ausreicht, sieht man an der letzten Kolonne der Tabelle, die den Durchschnitt von 2 geschädigten Herzen gibt. Hier ist die Aufnahme beträchtlich stärker als man erwarten kann. Erst wenn man in der kurzen Zeit von 30—45 min eine völlige Verteilung in den gesamten säurelöslichen Fraktionen annehmen wollte, ergäbe sich ein brauchbarer Wert von 4,63. Wenn man nicht annehmen will, daß hier ^{32}P vom Herzen stärker aufgenommen und transportiert wird als ^{31}P, ist man dazu gezwungen, unspezifische Bindungen an Zellstrukturen heranzuziehen.

Als beste Beschreibung solcher Vorgänge ist heute die Langmuirsche Adsorptionsisotherme anzusehen. $Kx = \frac{A-y}{y}$; x = Endkonzentration, y = adsorbierte Menge. Die Ableitung der Gleichung ist für die Entwicklung unserer Vorstellungen nicht ohne Bedeutung. Sie geht von der

Annahme aus, daß die Oberfläche nur eine begrenzte Zahl von besetzbaren Punkten besitzt[9]. Gegen diesen Wert müßte die Kurve konvergieren. Diese Grenze wird durch unseren Parameter A repräsentiert, während K der Gleichgewichtskonstanten entspricht.

Nach dem Verlauf der Messungen werden wir die Größe von A versuchsweise mit etwa 250 γ ansetzen können. Dieser Wert ist ein Minimum. Auf der Abb. 3 ist die Kurve eingezeichnet, die man mit diesem Einsatz und dem Durchschnitt der Punkt für Punkt errechneten Größe K erhält. Die Übereinstimmung ist, abgesehen von den Werten bei 4 und 38 γ, ausreichend. Jedoch haben wir uns zur Gewinnung eines weiteren Überblicks die Frage vorgelegt — wie schon früher[3] — wie dicht die Besetzung der zur Verfügung stehenden Oberfläche der Herzmuskelfasern anzusetzen sei. Wir setzten dabei den Radius des Phosphats nach den Volumeninkrementen mit 2,09 Å und mit der Packung in geordneten Quadraten an. Das Resultat war unerwartet, denn bei Annahme einer monomolekularen Schicht konnten höchstens 165 γ P auf der Oberfläche untergebracht werden. Wir haben auch diese theoretisch mögliche Grenzkurve mit der besten Gleichgewichtskonstante auf unserer Abbildung wiedergegeben. Bei niederen Konzentrationen sieht man den Vorgang der Adsorption wirksam. Von etwa 4 γ pro cm^3 P beginnt ein zweiter Effekt sich bemerkbar zu machen, also noch weit bevor die volle einmolekulare Schicht ausgebildet worden ist. Da es sich beim Phosphat um Einzelionen mit definierter Ladung, nicht um komplizierte polare Körper, wie die später untersuchten sauren Farbstoffe[10] handelt, ist die Vorstellung einer polymolekularen Schicht unbefriedigend. Dagegen findet sich ein gewisser Hinweis durch die Untersuchungen von Pohle[11], zugleich mit Anschluß an physiologische Beobachtungen. Pohle stellte fest, daß man durch Zugabe von Phosphat zur Kanülenflüssigkeit des schlagenden Froschherzens die für die Funktion notwendige Kalziummenge einschränken könne. Dieser Effekt beginnt sich in derselben Größenordnung bemerkbar zu machen, wie die tatsächliche Phosphataufnahme von der theoretischen Kurve sich ablöst. Pohle schließt aus seinen Versuchen (ähnlich früher Heubner), daß komplexe Kalziumphosphatverbindungen wirksam sind.

Wir haben bei der Kritik dieser Versuche[12] auf die Möglichkeit eines Hofmeister-Effektes hingewiesen, vor allem auch, weil im homogenen Milieu, d. h. in Lösung wirkliche Komplexe nur bei stärkeren Aziditäten nachgewiesen wurden. Nach der oben dargestellten Durchrechnung unserer Befunde müssen wir die Festlegung von Phosphat an bestimmten Punkten in größeren Komplexen, wahrscheinlich mit Kalzium postulieren, jedenfalls derart, daß dickere Schichten möglich sind (mit Kalzium als Brücke?). Damit verlieren wir vorerst die Möglichkeit einer rechnerischen Präzisierung. Keineswegs können wir uns eine Vorstellung

über die tatsächlichen Verhältnisse bilden. Aber wir halten es für möglich, daß unsere oben erwähnten Versuche über die Aufnahme von ^{32}P durch die Herzmuskelzelle nach Anoxämie usw. auch nicht als tatsächliche Aufnahme, sondern als die Veränderung der Herzoberfläche mit vielleicht regulativer Begünstigung einer Anlagerung aufzufassen sind, als erster chemischer Ausdruck der Schädigung einer Funktion.

Eine besondere Schwierigkeit geben die Befunde an den beiden Herzen der Tab. 1, bei denen die Aufnahme selbst die der größeren Konzentrationen überschritt. Ihre Schädigung erfolgte aber durch Säure, wobei die Bedingungen zu einer Fällung von Kalziumphosphat ungünstiger sind. Auch die auf Abb. 2 dem Sauerstoffmangel folgende Mehraufnahme pfropft sich der maximalen Phosphatspeicherung auf. Man könnte dabei die Vorstellung versuchen, daß PO_4 als Kalziumsalz gefällt, in den Spalten des schlechter durchspülten Herzens festgehalten wird. Aber gerade hierbei sieht man das Unzureichende solcher Erklärungen, denn trotz völlig wiederhergestellter mechanischer Aktivität hält der Phosphatschwund aus der Lösung an. Wie sich Partikel verhalten, zeigen übrigens Farbstoffversuche[10].

Wählt man zum Vergleich die Fällungsgrenzen, wie sie bei der Verknöcherung in Bildung und Heilung der Rachitis empirisch in dem $Ca \times P$ des Blutplasmas in Erscheinung treten, dann wird man unter Berücksichtigung der teilweise komplexen Bindung des Kalziums die Bedingungen dafür erst bei Phosphatkonzentrationen von über $10\,\gamma$ P pro cm^3 ab finden. Auch im Liquor cerebrospinalis sind die Konzentrationen an Ca und P höher, so daß man die einfache Überschreitung eines Löslichkeitsproduktes für diese Grenzen ausschließen kann. Wir haben damit das Problematische unserer Befunde nach einigen Seiten herausgestellt.

Die Bindung des Pyrophosphats.

Zur Prüfung des Bindungstyps dieses Anions stehen uns nicht die gesamte Gleichgewichtskurve, sondern nur einige Punkte aus 8 gelungenen Versuchen zur Verfügung (Abb. 3). Selbst wenn man berücksichtigt, daß mit einem Ion die doppelte P-Menge gebunden wird, sieht man die größere Bindungsfestigkeit des Pyrophosphats, nur zum Teil auf einer größeren Reaktionsgeschwindigkeit beruhend.

Wir können die Langmuirsche Isotherme zur Formulierung einer kinetischen Gleichung verwenden und würden nach unserer früheren Bezeichnung erhalten:

$$\frac{dx}{dt} = -K_1 (A - y) + K_2 y. \qquad (1)$$

mit K_2, der Dissoziationskonstanten. Man sieht sofort, daß im Gleichgewicht die Isotherme resultiert. Wir kennen in unserem Falle die Größe

A, also auch A-y nicht. Jedoch nehmen wir probeweise an, daß die Zahl der an der Oberfläche besetzten Bindungen (wir kehren zur Ableitung von LANGMUIR[9] zurück) im Verhältnis zu der tatsächlichen Aufladung bei unseren Konzentrationen so gering ist, daß wir den 2. Summanden der Gleichung, d. h. die Bedingung der Reversibilität der Reaktion, vernachlässigen. Wir formulieren jetzt etwas anders:

$$\frac{dC}{dt} = -K_1 (C_\infty - C)\ (C_0 - C). \tag{2}$$

C_∞ entspricht dem Endgleichgewicht, das bei der untersuchten Konzentration zu erwarten ist. C_0 = Anfangskonzentration. Wir rechnen nicht mit Molaritäten, sondern γ/cm^3. Die Integration wurde ausgeführt, wobei wir sowohl als Grenzen die Zeiten 0 und t, als auch t_n, bzw. t_{n+1} verwandten. Wir erhielten so 2 verschiedene Konstanten (mit x = der aufgenommenen Menge) z. B. für die letzte Art der Integration

$$K'_1 = \frac{1}{(A_2 - A_1)\ (C_\infty - C_0)}\, ln\, \frac{(C_0 - x_2)\ (C_\infty - x_1)}{(C_0 - x_1)\ (C_\infty - x_2)}. \tag{3}$$

Die so erhaltenen Resultate geben wir auf Tab. 2 wieder.

Tabelle 2.

Ausgangskonzentration		2 min	4 min	7 min	15 min	30 min	60 min
0,184 γ	K_1	2,39	3,02	2,03	1,27		
1,461 γ	K_1	0,347	0,287	0,278	0,200	0,143	0,129
	K'_1	0,347	0,235	0,267	0,130	0,087	0,114

Wir können aus der Tabelle eine ausreichende Übereinstimmung der Konstanten in jeder Versuchsserie in bestimmtem Zeitintervall entnehmen. Die Übereinstimmung wird systematisch bei Annäherung an das Gleichgewicht schlechter.

Ins Auge fallend ist die verschiedene Größe der Konstanten bei beiden Konzentrationen. Man kann das darauf beziehen, daß bei den höheren Konzentrationen eine starke Annäherung an das Gleichgewicht A erfolgt, so daß die Fortlassung des 2. Summanden in Gleichung 1 zu Fehlern führen muß, d. h. die oben für Phosphat geltende Art der Oberflächenbeladung gilt nicht für Pyrophosphat, das sehr viel schwächer, weit unterhalb der vollen Flächenbesetzung aufgenommen wird. Man kann das auch durch die LANGMUIRsche Isotherme selbst nachweisen, die 2 Parameter (A und K) enthält. Mit 2 Gleichungen kann man für beide einen Wert erhalten und kommt zu demselben Resultat. Schließlich sieht man dasselbe auf den beiden Gleichgewichtspunkten der Abb. 3. Wenn man beobachtet, daß um in Äquivalenten vergleichbare Werte zu erhalten, die γ-Zahlen des Pyrophosphats zu halbieren sind. Während bei der kleineren Konzentration auch dann noch eine deutlich stärkere Affinität resultiert, fallen bei der höheren Konzentration die Werte etwa zusammen, ein Zeichen der rascheren Krümmung der Kurve.

Die fast gleiche Größe der berechneten Assoziationskonstanten K_1 zeigt, daß der Verlauf der Bindung von Pyrophosphat auch der Gesetzmäßigkeit einer monomolekularen Reaktion folgt, aber keinesfalls mit einer Bindung von 2 Ionen an einen Akzeptor vereinbar ist. Das scheint in Widerspruch zu unseren Beobachtungen über die Ordnung der

Reaktion[2] zu stehen, wenn wir nicht die chemische Bindung wie hier, sondern die physiologische Funktion als Kriterium benutzen. Denn danach müssen sich 2 Moleküle an einen Akzeptor binden. Diese beiden anscheinend so differenten Erfahrungen sind aber durchaus vereinbar. Denn unsere Messungen liegen unterhalb derjenigen Konzentrationen, bei denen eine funktionelle Änderung sichtbar wird. Wenn eine Bindung aber 2 Moleküle aufnimmt, wird eine Dissoziation 2stufig erfolgen können. Es drängt sich so die Auffassung auf, daß nur soweit eine mechanische Änderung sichtbar wird, als die Bindung der 2. Stufe erfolgt ist. Diese Beobachtung ist zu wichtig, als daß man sich mit den bisherigen Messungen beruhigen könnte.

Die Komplexität der Pyrophosphat-Bindung soll noch an folgendem Versuch eine Erläuterung erfahren, wie er auf Abb. 4 wiedergegeben ist.

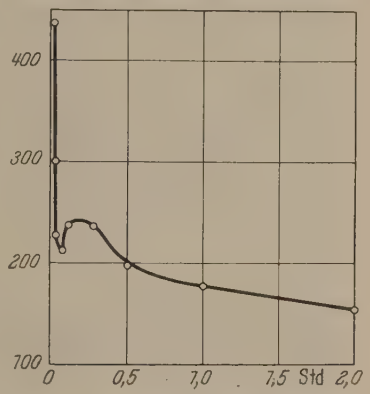


Abb. 4. Wiedergabe der Zählrohrimpulse in Proben der Kanülenflüssigkeit, in der Pyrophosphat in der Menge von 0,184 γ pro cm³ zugesetzt worden war. Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Zahl der Impulse in der jeweils gemessenen Probe. Jeder Punkt ist der Durchschnitt einer Doppelbestimmung. Erläuterung s. Text.

Wir sehen auf der Abb. 4 einen raschen Abfall, dem ein sekundärer Anstieg folgt. Die schon aus der Kanüle verschwundene Aktivität wird also wiederum in der Speiseflüssigkeit nachweisbar. Wenn wir auch schon vorher mit Phosphat unter den verschiedensten Gesichtspunkten ableiten konnten, daß vorwiegend eine Bindung an der Oberfläche erfolgt, ist hier ein eindeutiger und zwingender Beweis gewonnen. Denn ein in das Zellinnere aufgenommenes Phosphat kann aus diesem relativ riesigen Reservoir inaktiven Phosphats nicht wieder ausgeschieden werden.

Wir können 2 Wege vermuten, wie der gemessene Effekt durch einfache physiko-chemische Prozesse erklärt werden kann — unser wichtigstes Anliegen bei der Erforschung der Zellchemie und Zellstruktur:

1. Durch die Spaltung des Pyrophosphats durch die Phosphatasen der Zelloberfläche, die schon früher nachgewiesen wurden[3], werden aus einem Anion zwei, und eines wird in der Speiseflüssigkeit erscheinen, wenn für die Bindung vor allem elektrostatische Kräfte wirksam waren. Diese Interpretation möchten wir ablehnen, schon weil die Reaktion im Verhältnis zur Phosphatasespaltung zu rasch verläuft.

2. Als Komplexbildner binden sich bestimmte Anionen an in der Zellgrenze eingebaute Cu-Atome. Es wurde früher nachgewiesen[13], daß durch Komplexbildner Cu aus der Oberfläche der Herzmuskelzelle herausgelöst werden kann, so daß es im Kanüleninhalt erscheint. Die auf der Abb. 4

sichtbare Erhebung würde die Herauslösung von 0,048 γ Cu bedeuten. Das ist eine Größe, die nach unseren früheren chemischen Bestimmungen durchaus zu erwarten wäre. Deshalb bevorzugen wir diese Art der Erklärung.

Bei der Bindung an die Oberfläche lag die Frage nahe, ob eine Parallelität mit der früher[3] gemessenen Aktivität der Phosphatasen der Herzmuskeloberfläche nachzuweisen wäre. Deshalb haben wir an den Versuch über die Aufnahme von ^{32}P noch folgende Prüfungen des Herzens angeschlossen:

1. Es wurde die Aufnahme von Kongorot festgestellt. Eine 0,0025% Lösung wurde für 10 min eingefüllt, um das Verschwinden der Farbe festzustellen. Diese Prüfung gibt uns Auskunft über die rasch zur Aufnahme bereite Herzoberfläche, was wir[10] ausführlicher untersuchten.

2. Eine m/1000 Pyrophosphatlösung blieb ½ Std bei 25° in der Kanüle zur Feststellung der individuellen Aktivität des Herzens (gerechnet auf 1 Std). Die Resultate, auf g/Herz berechnet, legen wir auf folgender Tabelle vor:

Tabelle 3.

Versuchs-Nr.-	Endaufnahme* γ P/g Herz	Freisetz. v. PO_4 durch Phosphatase	Kongorot-speicherung	*Phosphatase* Endkonzentrat.	*Kongorot* Endkonzentrat.
19	5,2	65,3	394,0	10,0	75,6
20	7,88	392,0	831,0	39,8	105,0
21	6,64	284,0	663,0	34,2	100,0
32	64,0	294,0	614	3,77	9,60
33	26,4	232	526	7,0	19,80
34	63,3	400	1210	5,05	19,06
35	24,0	220	652	7,33	27,1
36	26,4	270	452	8,18	17,1

* Gemessen durch die Aufnahme von ^{32}P bis zum Gleichgewicht.

Aus der Tabelle ist ein gewisses Sinken und Steigen der chemischen Aufnahme mit beiden gemessenen Faktoren sichtbar, wie man besonders leicht sehen kann, wenn man die Punkte in Form eines Scatterdiagramms aufträgt. Bei der niederen Konzentration (die ersten 3 Versuche) scheint die Kongorot-Aufnahme besser zu passen, bei der höheren, d. h. den letzten 5 Versuchen dagegen die Phosphatase-Aktivität. Jedoch ist das Material zur Aufstellung einer Korrelation und zu statistischer Entscheidung nicht ausreichend, gibt aber doch einen Hinweis.

Die Korrelation der Aufnahme von Kongorot in Phosphataseaktivität ist schwach positiv. Korrelationskoeffizient: $r = +0{,}33 \pm 0{,}052$ (15 Versuche).

Zusammenfassung.

Es wurde die Bindung von PO_4 und P_2O_7 durch das isolierte Froschherz mit Hilfe der Phosphorisotope ^{32}P untersucht.

Bei ganz kleinen Konzentrationen (0,184 γ P/cm³) wurde ein aktiver Prozeß sichtbar, der eine Kapazität von 0,008 γ—0,04 γ P/g Herz/min Förderleistung besaß. Der Temperaturkoeffizient war klein (Q_{10} = 1,57).

Der weitaus überwiegende Verlust aus dem Inhalt der Herzkanüle ist einer Adsorption zuzuschreiben. Die Gleichgewichte folgen bei kleineren Konzentrationen der Langmuirschen Isotherme, keinesfalls kann hier eine Mischung mit den Phosphatverbindungen des Zellplasmas in Frage kommen.

Oberhalb 4 γ P/cm³ wird ein zweiter Prozeß sichtbar, so daß die Oberfläche stärker beladen wird als der Raumbeanspruchung des PO_4 entspricht.

Durch Schädigung des Herzens (Azidität, Anoxämie, osmotischen Druck) wird seine Aufnahmefähigkeit vergrößert.

Pyrophosphat wird stärker aufgenommen, aber das Endgleichgewicht ist schwächer. Seine Bindung folgt in gewissem Bereich der Aktivität der Phosphatasen der Herzoberfläche.

Die Bindungsgeschwindigkeit folgt einigermaßen einer einmolekularen Reaktion.

In einer ersten Phase verläuft die Aufnahme periodisch, wahrscheinlich weil Pyrophosphat als Komplexbildner mit Kupfer sich an dieses bindet und der gesamte Komplex vorübergehend in den Kanüleninhalt zurückkehrt.

Literatur.

[1] Sacks, J.: Cold Spring Harbor Sympos. Vol. XIII, 180 (1948). Daselbst Literatur. — [2] Eichler, O., u. E. Wolff: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 1 (1944). — [3] Eichler, O., u. W. Stober Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 647 (1948). — [4] Kamen, M.D.: Radioactive Tracers in Biology, S.184. New York 1948. — [5] Clark, A. J., M. G. Eggleton, u. P. J. Eggleton: Physiol. **75**, 25P (1932). — [6] Mügge, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **173**, 333 (1933). — [7] Hevesy, G. L. Hahn, u. O. Rebbe: Biol. Medd. danske Vidensk, Selsk. **16**, 81 (1941). — [8] Ussing, H. H.: Cold Spring Harbor Sympos. XIII, S. 193 (1948). — [9] Eucken, A.: Lehrbuch der chemischen Physik II, 2, 1225ff. — [10] Eichler, O., R. Schütze, u. I. Appel: anschließende Arbeit. — [11] Pohle, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **178**, 109 (1935). — [12] Eichler, O.: Pharmakologie anorganische Anionen. Die Hofmeistersche Reihe. Heffter-Heubners Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Erg.-W. Bd. 10. Springer 1950. — [13] Eichler, O.: Naturwissenschaften **35**, 192 (1948).

Prof. Dr. O. Eichler, Heidelberg, Chirurg. Univ.-Klinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 268—276 (1951).

Aus der Chir. Univ. Klinik Heidelberg (Direktor: Prof. K. H. Bauer).

Über die Aufnahme einiger grobdisperser Farbstoffe durch das isolierte Froschherz*.

Von

Oskar Eichler**, Richard Schütze und Ilse Appel.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1950.)

Negativ geladene, d. h. saure Farbstoffe wie Kongorot und Brillantkongo-R, fanden nach den Untersuchungen von Bennhold u. a. in der Klinik, aber auch im Laboratoriumsversuch vielseitige Anwendung. So dienten sie unter der Voraussetzung, daß eine Eliminierung langsamer einsetzt als ihre Verteilung im Blutgefäßsystem, zur Bestimmung der Plasmamenge. Da die Farben zugleich im Retikuloendothel aufgenommen werden, wurde gerade ihr Verschwinden aus den Blutgefäßen als Prüfung für die Funktion dieses Systems eingesetzt. Die Bennholdschen Befunde, die sich vorwiegend mit Speicherung befassen, wurden nun auch auf andere Zellen übertragen und die Aufnahme dieser Farbstoffe als Zeichen veränderter Permeabilität gewertet.

Wir versuchten zuerst Kongorot beim isolierten Froschherzen, um genaue quantitative Unterlagen über die Größe der schwammartigen Zwischenräume zu gewinnen, die wir für die Experimente[2] über Aufnahme des Phosphats in die Muskelfaser benötigten. Nach früheren Befunden[1] konnten wir erwarten, daß das Gleichgewicht in etwa 10 min erreicht sein würde. Diese Hoffnung erfüllte sich jedoch nicht, denn aus der Kanüle des isoliert schlagenden Ventrikels verschwand der Farbstoff auch weiterhin. Uns interessierte die Frage nach seinem Verbleib. Wurde er in die Zelle aufgenommen, oder suchte er nur die Oberfläche auf?

Methodik.

Das Verfahren entsprach dem in der vorausgehenden Arbeit (S. 255) beschriebenen: isolierte Ventrikel von Rana temporaria und Rana esculenta (meist Sommer bis spätestens Oktober 1949); Zahl der gelungenen Versuche: 25; Beobachtungszeit: 7½—9½ Std. Die Farbstofflösungen wurden in kurzen Intervallen gewechselt und der Farbstoffschwund teils im Stufenphotometer, teils im Coleman-Kolorimeter photoelektrisch verfolgt. Diese chemischen Analysen wurden ergänzt durch mikroskopische Untersuchungen, meist mit dem Phasenkontrastverfahren.

Verschwinden der Farbstoffe aus der Lösung.

Gibt man eine Lösung von Kongorot in geeigneter Konzentration in die Froschherzkanüle, dann kann man bei einfacher Inspektion schon

* Herrn Prof. F. Eichholtz zum 60. Geburtstag.

** Mit Unterstützung der Stiftung für Krebs- und Scharlachforschung.

bald bemerken, daß der Farbstoff aus der Flüssigkeit verschwindet und das Herz diffus rot anfärbt. Beim Wechsel der Flüssigkeit steigert sich die Färbung. Es ist evident, daß die Bedingungen zur Speicherung bei häufigerem Wechsel der Flüssigkeit günstiger sind, weil die Konzentration der Speiseflüssigkeit im Durchschnitt der Zeit höher sein muß.

Als Beispiel des quantitativen Verlaufs geben wir auf Abb. 1 einen Versuch wieder, bei dem sich innerhalb der Kanüle 0,005% Kongorot befand. In den ersten 2 Std wurde der Kanüleninhalt alle 15 min, später nur alle 30 min erneuert.

Am leichtesten übersichtlich und im Verlauf am wenigsten durch Fehler belastet ist die Summenkurve. Ersichtlich ist der anfangs raschere

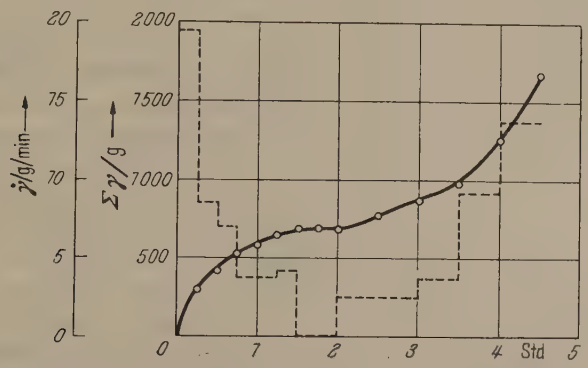


Abb. 1. Froschherzventrikel. Temperatur 25°, Abszisse: Zeit in Stunden, Ordinate: gestrichelte Linie: Aufnahme von Kongorot in γ gerechnet pro g Ventrikel in der Minute (Differenzenquotienten). Durchgezogene Linie: Summen-Kurve $\frac{\Sigma}{t}\ \gamma$/g.

Anstieg, der einer Exponentialfunktion ähnelt. Nach 1½ Std hört die weitere Farbstoffspeicherung völlig auf, und es scheint schließlich ein Endgleichgewicht, eine Art Sättigung erreicht zu sein. Aber von der 3. Std ab beginnt ein neuer Anstieg, der sich mit der Zeit steigert. Dieser Verlauf war charakteristisch, wenn auch die erste Phase meist in die zweite ohne Pause überging, d. h. die Differenzenquotienten erreichten nicht die Abszisse, sondern stiegen nach Durchlaufen eines Minimums zunehmend an. Eine wirkliche Sättigung ist also nicht festzustellen. Ein entsprechender Wert hätte es uns gestattet, die Langmuirsche Adsorptionsisotherme anzuwenden. Um dennoch in der kurzen Zeit, die mit der Unversehrtheit des isolierten Herzens vereinbar ist, zu dieser Größe zu gelangen, gaben wir die 10fache Konzentration, d. h. 0,025% Kongorot in die Kanüle, und schlossen daran die niedere an. Beim Wechseln von hoher auf niedere Konzentration zeigte sich jedoch, daß der Verlust in der gegebenen Zeit auch meist anstieg.

Wie sind diese Befunde zu verstehen? Eine direkte Adsorptionsisotherme ist nicht anwendbar, weder die von Freundlich, noch die von Langmuir, weil keine Gleichgewichte vorliegen, sondern Vorgänge in der Zeit. Jedoch geben die Kurven Bilder von fiktiven Gleichgewichten, weil die Aufnahmegeschwindigkeit mit dem Abstand der angebotenen Konzentration von einem Gleichgewicht steigt und fällt. Die Funktionen sind nicht einfach, ergeben auch auf logarithmischem Papier keine oder nur zeitweise gerade Linien, aber sie spiegeln den Gang wider, sind also zur qualitativen Diskussion brauchbar.

Wenn die Oberfläche sich adsorptiv mit dem Farbstoff belädt, müssen wir einen Verlauf erwarten, wie er im ersten Teil der Abb. 1 vorliegt, d. h. die Tendenz zur Sättigung. Dasselbe wäre vorhanden, wenn eine Aufnahme in das Innere der Zelle stattfände, soweit nur irgendwelche Gleichgewichte anzunehmen sind. Dieser Teil kann uns also nicht weiterbringen.

Der zweite Teil ist eindeutiger, wenn man die Befunde von Brunauer und Emmett[3] zum Vergleich heranzieht. Bei ihren Adsorptionsversuchen fanden sie dieselben Kurven bei den verschiedensten Adsorbentien, nur nicht bei Tierkohle. Man hielt den sekundären Vorgang für ein Zeichen der Kapillarkondensation, konnte ihn jedoch auf eindeutigen äußeren Oberflächen nachweisen. Es lagern sich nicht eine, sondern mehrere Lagen von Molekülen an. Nach de Boer und Zwicker wird die erste Lage in gerichteten Dipolen angelagert, die folgende schichtet sich entsprechend darüber. Nach Brunauer und Emmett[3] sind nicht polare, sondern dieselben Kräfte tätig, die schon zu der ersten Aufnahme des Adsorbates führten, also van der Waalssche Kräfte. Vorläufig soll das noch keine Entscheidung für eine dieser Vorstellungen bedeuten.

Wenn auch Grund genug vorhanden ist, den Vorgang an der Oberfläche komplizierter zu verstehen, so muß die Anlagerung in mehreren Schichten angenommen werden, wie es auch aus den histologischen Bildern ersichtlich ist. Es ist hier wie am rein anorganischen Modell, daß die Aufnahme weiterer Schichten rascher erfolgt. Der Verlauf ist also so zu beschreiben: Anfangs bedeckt sich die zugängliche Oberfläche allmählich mit einer einfachen Schicht von Molekülen. Sobald diese Schicht dicht genug geworden ist, kommt es zur Anlagerung weiterer Schichten, die nicht mehr irgendwelchen Gleichgewichten gehorchen. Dadurch beschleunigt sich der Prozeß.

Folgen veränderter Herzmechanik.

Diese Darstellung weist also eindeutig auf einen Oberflächenvorgang hin. Man muß sich aber trotzdem mit dem Einwand auseinandersetzen, daß der sekundäre Anstieg mit einer Schädigung der Muskelfasern, daraus folgender Permeabilitätssteigerung der Zellgrenzen und Aufnahme ins Protoplasma zusammenhängt.

Zur Erläuterung unserer Gedankengänge dient Abb. 2, die in einem Versuch mit Brillantkongo R gewonnen wurde.

Auf dieser Abbildung sehen wir zuerst raschere Aufnahme des Farbstoffes am Anfang. Es folgt aber kein Ansatz zur Sättigung, die Aufnahme setzt sich fort. In dieser Hinsicht bedeutet diese Kurve das andere Extremum unserer Versuche. Es ist keine Steigerung sichtbar, wie auf Abb. 1. Die Intervalle, in denen die Lösung aus der Kanüle nicht gewechselt werden, sind bedeutend länger, die Bedingungen zur Anfärbung also ungünstiger. Trotzdem setzt sich die Farbstoffspeicherung linear fort,

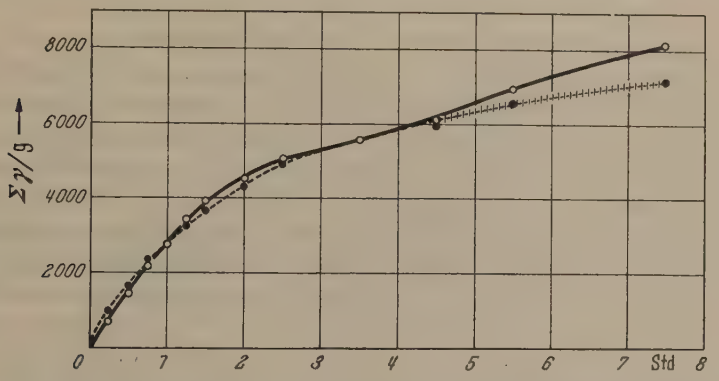


Abb. 2. Parallelversuche bei 25 Grad an 2 Herzen unter 0,0025% Brillant-Kongo-R. Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: Summe der Farbstoffaufnahme. Von dem Zeitpunkt des quergestrichenen Kurvenzuges an wird die mechanische Aktion des betreffenden Herzens schlechter.

aber nur bei dem einen Herzen. Gerade das wollen wir auf dieser Abbildung demonstrieren. Während die beiden Herzen sehr gleichmäßig ihren Farbstoff aufnahmen, hörte das in dem Augenblick auf, in dem die schlechtere Mechanik eine Schädigung des einen Herzens vermuten ließ. Von diesem Augenblick an wurde die Aufnahme schlechter.

Das ist entgegengesetzt den Befunden von Eichler und Schmeiser[2] mit ^{32}P-Phosphat, das vom geschädigten Herzen vermehrt aufgenommen wird. Das verminderte Eindringen der Farbstoffe in unseren Versuchen ist demnach ein Zeichen dafür, daß die Zwischenräume der Herzwand bei mangelhafter Pulsation schlechter durchströmt werden, und so weniger Oberflächen zur Adsorption zur Verfügung stehen. Daraus folgt dann eine reduzierte Aufnahme, wie die Ergebnisse der Abb. 2 zeigen.

Diese Verhältnisse erschweren es, ja machen es unmöglich, den *Temperaturkoeffizienten* der Farbstoffspeicherung festzustellen. Wir verglichen die Temperatur von 5° mit der von 25°, um einen möglichst großen Effekt zu haben. Zu erwarten wäre eine raschere Aufnahme bei der niederen Temperatur, da wir es nicht mit einer aktivierten Adsorption zu tun haben, bei der chemische Reaktionen eintreten. Ein

Versuch ergab ein positives, 2 weitere aber ein entgegengesetztes Resultat, das sich leicht durch die häufig veränderte Mechanik des Herzens bei 5° erklärt. Das Herz tendiert mehr zur Systole und führt langsamere wurmartige Bewegungen aus. In diesem Zustand — wir haben diese Versuche nur bei einem Farbstoff ausgeführt — wirkt Kongorot (0,005% oder besser bei höherer Konzentration) an sich in Richtung einer Betonung der Systole. Sonst wurde durch Farbstoffe das Herz nicht beeinflußt, jedenfalls nicht in der ersten Zeit. Wenn jedoch, wie bei Brillantkongo-R, die Speicherung stark ansteigt — besonders in der Spitze, die am leichtesten zugänglich ist — tritt eine Hemmung in gewissem Ausmaß ein. Wir beziehen das auf eine rein mechanische Störung der starken adsorbierten Schichten. Bis zu diesem Zustand dauerte der Versuch aber 7—9 Std, und der Herzmuskel hatte 2% seines Feuchtgewichtes (im Durchschnitt!) aufgenommen (vgl. unten S. 273).

Mechanische Folge der Farbstoffablagerung.

Wir haben schon aus Abb. 1 den Schluß gezogen, daß die Farbstoffablagerung in mehreren Schichten erfolgt. Die zweite Schicht muß sich sogar rascher bilden als die erste. An Stellen, an denen überhaupt erst einmal eine Farbstoffablagerung stattgefunden hat, wird späterhin mehr abgelagert als an den benachbarten Stellen, denen die erste Farbstoffschicht fehlt. Der Vorgang erscheint analog einem autokatalytischen Prozeß. So lassen sich die Befunde, die bei nicht ganz dichten Ventrikeln gewonnen wurden, erklären. Undichtigkeiten treten bei mechanischer Verletzung leicht auf. Das Herz tropft. Gibt man Kongorot dazu, dann sieht man, daß die abtropfende Farblösung völlig entfärbt ist. Der Durchtritt durch die Spalträume hat die Lösung in so innigen Kontakt mit zahlreichen Oberflächen gebracht, daß vom Farbstoff wie nach Durchgang durch ein feinporiges Filter nichts mehr übrig bleibt. Wir haben beobachtet, daß nach längerer Zeit schließlich etwas Farbstoff in der Lösung zurückbleibt, daß also eine Art von Sättigung anzunehmen ist. Aber meist konnte man beobachten, daß die Tropfenfolge spärlicher wurde und schließlich völlig aufhörte.

Bei einem Herzen fällt in den ersten 10 min alle 30 sec 1 Tropfen. Nach 50 min nur noch in 5 min, anschließend nach 10 min der letzte Tropfen. Alle 5 min war die Lösung gewechselt worden. Wir haben besonders mit stärkeren Konzentrationen (d. h. 0,025% Kongorot) sonst unbrauchbare Herzen dichten können.

Man verwendet gelegentlich Kongorot zur Dichtung von durchlässigen Kapillaren bei Hämorrhagien und glaubt, daß es sich dabei um eine Funktionssteigerung des Retikuloendothels handele. Bei unseren Versuchen kann die Abgabe irgendwelcher Stoffe von einem Retikuloendothel keine Rolle spielen. Deshalb würden wir einen mechanischen Effekt in schon angedeuteter Richtung verantwortlich machen und werfen die Frage auf, ob derartiges nicht auch am ganzen Organismus eintreten kann. Wäre es denkbar, daß die „Blockade" des Retikuloendothels, die bei manchen Farbstoffen beschrieben wird, auf der Bildung von Grenzschichten beruht?

Besonderheiten bei den einzelnen Farbstoffen.

Kongorot und Brillantkongo-R sind saure sulfonierte Farbstoffe, während Alkali-Echtgrün* eine Triphenylmethylverbindung darstellt, deren Konstitution nach den Farbstofftabellen unbekannt ist, die aber auch zu den sauren Farbstoffen gehört. Alle haben kolloide Verteilung. Der Verlauf der Aufnahme ist im Prinzip derselbe, wie wir es auf Abb. 1 als Beispiel darlegten. Brillantkongo erreicht seine primäre Sättigung später, bzw. die sekundäre Schichtung beginnt rascher, so daß das Minimum des minimalen Differenzenquotienten kürzer ist. Aber in dieser Hinsicht ist sonst kein prinzipieller Unterschied sichtbar, wohl dagegen in der absoluten Menge, die bei bestimmten Konzentrationen aufgenommen wird. Wir wollen nicht genaue Zahlen der Beladung zu einer bestimmten Zeit angeben, weil die Versuche zu verschiedenartig geführt wurden, teils im Wechsel der Konzentration, teils in der Temperatur.

Wir begannen bei allen Farbstoffen in der Stärke von 0,0025%, weil in dieser Größenordnung die Kolorimeterablesungen die größten Ausschläge zeigten. Während von Kongorot in 2 Std etwa 1000 γ/g aus der Kanüle verschwanden, fehlten bei Alkali-Echtgrün in 3½ Std nur 30 γ/g. Steigerte man jedoch die Konzentration auf 0,025%, dann wurde eine Aufnahme von über 2000 γ/g erzwungen. Von Kongorot wurde in derselben Konzentration das 2—3fache absorbiert.

Brillantkongo R wurde sogar noch stärker gespeichert als Kongorot. 0,0025% wurden 2—4fach so stark aufgenommen wie Kongorot, und bereits bei 0,005% betrug die Beladung bis 2% des Feuchtgewichtes.

Histologische Befunde.

Die in den quantitativen Versuchen verwendeten Herzen wurden histologisch untersucht, um den Verbleib der Farbstoffe festzustellen. Unter einer Präparierlupe wurden kleine Gewebsstücke sorgfältig zerzupft. Die Zupfpräparate wurden in Ringerlösung mit der Phasenkontrasteinrichtung durchmustert und zahlreiche Aufnahmen gemacht. Wenn kein Eindringen der Farbstoffe in vivo erfolgt, kann das vorgetäuscht werden, da nach dem Absterben die Zellgrenze ihre Stabilität verliert. Eine Störung der Zellstruktur muß deshalb durch schonende Behandlung vermieden werden. Aus den Versuchen von Eichler und Schmeiser[2] mußten wir vermuten, daß die Permeabilität für Phosphat schon bei schlechterer Sauerstoffversorgung zunimmt. Um das zu vermeiden, wurden die Ventrikel beim eventuellen Transport und bis zur Verwendung auf Eis aufbewahrt. Nicht vermeiden läßt sich aber die Verletzung durch die Präparation. Dann können neue Anordnungen der

* Dieser Farbstoff wurde uns von Schulemann empfohlen und geliefert, dem wir an dieser Stelle dafür danken.

Farbstoffe eintreten und ein Eindringen in das Zellinnere vortäuschen. Wir wollen ein besonders deutliches Beispiel geben.

Kongorot und Brillantkongo-R färben die Zellkerne an, aber selbst bei stärkster Beladung sind höchstens 10% der Zellkerne wirklich gefärbt, und zwar nur in den ganz stark angefärbten Partien. Wir beziehen es deshalb auf einen Bruch in der Oberfläche, durch den Farbstoff eindringen kann, so daß er in den Kernen sichtbar wird, wenn vorher außen genügende Mengen zur Verfügung standen. In einem Versuch mit Brillantkongo-R war an einer Stelle ein Muskelbündel durchgerissen, so daß die Zellkerne in einer Reihe nicht weit von der Rißfläche entfernt waren. Diese Kerne waren sämtlich angefärbt, während die nächsten Kerne keine Farbe aufgenommen hatten.

Dieser Befund scheint uns ein eindeutiger Beweis dafür, daß die Färbung sekundär eingetreten ist und mit Vorgängen während des

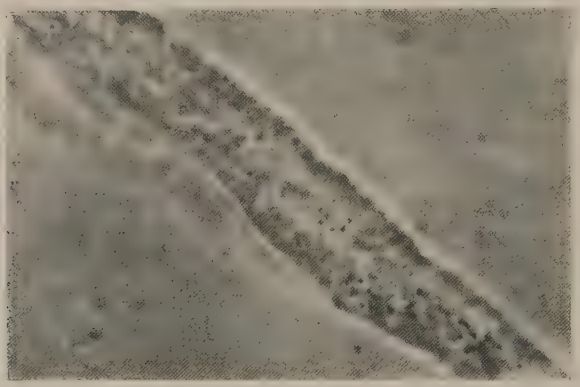


Abb. 3. Herz von r.esculenta mit 0,005% Brillant-Kongo-R behandelt. Zupfpräparat. Phasenkontrastverfahren, Ölimmersion. 630fache Vergrößerung Contax. Der Farbstoff befindet sich am äußeren Rande und ist nicht in die Zelle eingedrungen. Es handelt sich um ein Muskelbündel, bei dem die inneren Oberflächen viel schwächer beladen sind.

Lebens nichts zu tun hat. Das ist ein Hinweis dafür, daß ein negativer Befund (die 90—95% nicht angefärbten Zellkerne) maßgeblich ist. Als Beispiel für die tatsächliche Anordnung geben wir auf Abb. 3 eine Muskelfaser aus einem Herzen wieder, das mit Brillantkongo-R behandelt wurde. Die Ablagerung des Farbstoffes ist deutlich schichtweise. Aus stereometrischen Gründen muß das Bild so aussehen. Man kann eine besonders klare plastische Vorstellung von der zylinderförmigen Anordnung der Farbstoffpartikel gewinnen, wenn man während der Beobachtung einer Faser mit der Mikrometerschraube spielt.

Die Verteilung läßt sich bei Kongorot noch deutlicher vor Augen führen, wenn man ein Fluoreszensmikroskop benutzt. Der Farbstoff fluoresziert tief dunkelrot. Aus dem dunklen Hintergrund treten die Muskelfasern, wenn die Isolierung gut gelingt, als tief dunkelrot leuchtende Hohlzylinder hervor. Bei etwas schwächer angefärbtem Herzen

fand sich gelegentlich der Farbstoff nicht gleichmäßig auf der Zelloberfläche verteilt, sondern in kleinen, unregelmäßig begrenzten Arealen (Plaques). Vgl. Abb. 4.

Dieser Befund stimmt mit Resultaten von QUASTEL u. WHEATLEY[5] an Coli überein. In unverletzte Bakterien drang Kongorot nicht ein, so daß keine Hemmung der Xanthinoxydase merkbar wurde.

Zwischen den beiden bisher erwähnten Farbstoffen besteht der Unterschied, daß Brillantkongo-R sich gelegentlich in Form von zusammengeballten Körnchen an die Faser anlagert. Dieses Bild kann den Eindruck erwecken, daß sich auch Körnchen im Innern der Faser befinden. Das kann man jedoch durch Absuchen zahlreicher Partien ausschließen und wird auch wie folgt erklärt werden können.

Abb. 4. Isolierte Herzmuskelfaser mit Kongorot beladen. Fluoreszenzbild.

An dieser Stelle sei eines Umstandes gedacht, der die Verletzung der Muskelfasern durch die Präparation zu prüfen gestattet. Wird das Präparat bei Auflegen von Deckgläschen auch nur ungebührlich gedrückt, dann zeigen sich in der RINGERlösung außerhalb der Faser eine Unzahl winziger runder Partikel von verschiedenem Durchmesser, die lebhafteste Molekularbewegung ausführen. Die Partikel treten im gewöhnlichen Mikroskop wenig hervor, wenn sie nicht gefärbt sind, mit der Phasenkontrasteinrichtung fallen sie jedoch sofort ins Auge. Sie stammen aus dem Protoplasma der Zelle und werden von dort bei einer Verletzung durch Pressen herausgedrückt. Unter dem Mikroskop kann man sonst keine Beschädigung feststellen. Es ist von Interesse, daß diese Partikel nach und nach sich an die Muskelfaser anlagern. Sie sind im Zellinnern zugleich sichtbar und lokalisierbar. Bei genauer Beobachtung kann man feststellen, daß diese Körnchen sich außen in genau der Anordnung anlagern, die im Innern der Querstreifung entspricht. Da die Querstreifung in den Muskelfibrillen nicht bis zur Zellgrenze reicht, sondern von dem

Sarcolemm umgeben ist, bedeutet dieser Befund, daß die periodische Struktur sich durch das Sarcolemm bis an die Zelloberfläche fortsetzt.

Diese Partikel erwähnen wir zur Einführung in unseren Bericht über Alkali-Echtgrün. In den kleineren Konzentrationen färbt sich die ganze Masse des Herzens tief grün, aber im mikroskopischen Bild ist keine Anfärbung zu sehen. Das ist verständlich, da eine einmolekulare Schicht im Mikroskop nicht sichtbar sein kann, und so groß kann höchstens die Schicht sein. Wenn wir jedoch durch eine hohe Konzentration (0,025%) die Speicherung im Ventrikel erzwingen, wie wir es oben darlegten, dann sieht man auch hier am Rande der Zellen feine grüne Säume. Wenn sich jedoch durch die Präparation Partikel mit Brownscher Molekularbewegung in der umgebenden Lösung befinden, kann man das Wandern des Farbstoffes gewissermaßen unter den Augen beobachten. Man sieht, wie die grünen Säume, die viel leichter beweglich sind, als die der beiden anderen Farbstoffe, verschwinden und die Partikel angefärbt werden.

Da heute vielerorts histochemische Probleme bearbeitet werden, möchten wir darauf aufmerksam machen, daß man diese Zelltrümmer durch Anfärbung mit Alkali-Echtgrün bei einem Isolierungsprozeß stets identifizieren kann.

Wir wissen nicht, inwieweit der Farbstoff brauchbar wäre — ähnlich Akridinorange (Strugger) — durch Färbung abgestorbene von lebenden Zellen zu unterscheiden.

Zusammenfassung.

Die Aufnahme der 3 Farbstoffe: Kongorot, Brillantkongo-R und Alkali-Echtgrün durch das isoliert schlagende Froschherz wurde untersucht.

Die Farbstoffe verschwinden anfangs ähnlich einer Exponentialfunktion aus der Kanüle, später erfolgt die Aufnahme stärker. Das ist ein Zeichen, daß die Ablagerung an der Zellgrenze und zwar in mehrfacher Lage erfolgt, also entsprechend einer Adsorption.

Die Anlagerung an die Zelle läßt sich auch histologisch dartun, soweit die Zellgrenzen nicht durch die Präparation gelitten haben.

Sind die Zellgrenzen verletzt, dann suchen Kongorot und Brillantkongo-R den Zellkern auf. Alkali-Echtgrün färbt besonders körnige Strukturen des Plasmas an.

Undichtigkeiten des Herzens können durch Kongorot gedichtet werden.

Literatur.

[1] Eichler, O.: Pflügers Arch. **247**, 264 (1943). — [2] Eichler, O., u. K. Schmeiser: vorhergehende Arbeit. — [3] Brunauer, St., u. P. H. Emmett: J. Amer. chem. Soc. **59**, 2682 (1937). — Brunauer, St., P. H. Emmett, u. E. Teller: J. Amer. chem. Soc. **60**, 309 (1938); **62**, 1723 (1939). — [4] Quastel, J. H. u. Wheatley: Biochem. J. **25**, 629 (1931).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 277—283 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Zur Wirkungsweise intravenös gegebenen Novocains und verwandter Verbindungen.

Von

FRITZ HEIM.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1950.)

Die intravenöse Verwendung von Novocain, die vor allem zur Behandlung von Störungen im Bereich des vegetativen Nervensystems empfohlen wird, wurde bisher bei der Hypertonie, Asthma bronchiale, Heuschnupfen, Serumkrankheit, Diarrhoen, Hyperazidität, Ulcus ventriculi u. a. verwendet, also vorwiegend bei Erkrankungen allergischer Genese, die nach klinischer Auffassung und unseren tierexperimentellen Beobachtungen[1] als Folgezustände einer abnormen vegetativen Tonuslage mit Vorherrschen des Vagustonus aufzufassen sind.

Nach MANCKE u. ORZECHOWSKI[2] besteht die Wirkung intravenös gegebenen Novocains in einer Sensibilisierung der Gewebselemente gegenüber Adrenalin, vielleicht weil Novocain nach in-vitro-Versuchen den Abbau des Adrenalins durch die Aminoxydase hemmt. SOEHRING[3] vermutet, daß die therapeutische Wirkung des Novocains weniger ihm selbst, als dem während der Novocainverseifung im Körper entstehenden Diäthylaminoäthanol zukommt, das nach HAUSCHILD[4] am TRENDELENBURGschen Gefäßapparat die Adrenalinwirkung sehr verstärkt und nach RIESSER u. HERRGOTT[5] auch am isolierten Froschherzen in niedrigen Konzentrationen auf Azetylcholin hemmend und Adrenalin verstärkend wirkt. Am Warmblüter ließ sich durch Diäthylaminoäthanol keine Adrenalinsensibilisierung erzielen (HAUSCHILD[6]).

Wir haben deshalb an Warmblütern weitere Untersuchungen über die Wirkung von Novocain, Diäthylaminoäthanol und anderen dem Novocain nahestehenden Verbindungen durchgeführt, von der Annahme ausgehend, daß die therapeutische Novocainwirkung weniger in einer Sensibilisierung gegenüber dem Sympathikus als vielmehr in einer peripheren Blockierung des Vagus zu suchen sei, da die therapeutischen Erfolge am eindeutigsten bei Krankheiten mit einem abnorm hohen Vagustonus zu beobachten sind. Entsprechend unserer Fragestellung mußten Novocain und die übrigen Verbindungen in Mengen angewandt werden, die im Bereich der bei der intravenösen Novocaintherapie am Menschen benutzten Einzeldosen liegen (bis 10 cm^3 2% Novocainhydrochloridlösung).

Methodik.

Die Versuche wurden an Katzen durchgeführt. Als Narkotikum wurde Chloralose, 80 mg/kg Körpergewicht, verwendet. Die Frequenz des rechten Vorhofs bei eröffnetem Thorax wurde mittels eines Fleischschen Ordinatenschreibers registriert 1 mm Ordinatenhöhe = $^1/_{50}$ sec. Registrierung des arteriellen Drucks in der Femoralarterie. Der Sympathikus wurde am Hals vom Vagus getrennt, und nach Durchschneidung des letzteren der rechte periphere oder zentrale Vagusstumpf (r. p. V. bzw. r. z. V.) mit in einem Schwingungskreis erzeugten Wechselströmen von 50 Hertz und Intensitäten zwischen 0,0005—10,0 mAmp. gereizt. 1 Std nach Durchschneidung sinkt die Reizschwelle am peripheren und zentralen Vagusstumpf auf den niedrigsten Wert der über mehrere Stunden konstant bleibt. Die Reizdauer am r. p. V. betrug stets 1,5 sec, die am r. z. V. 30—60 sec. Die spontane Atmung bei geschlossenem Thorax wurde mittels eines Pistonrekorders registriert, der sich im Nebenschluß zweier in der Nähe der Trachealkanüle mit einem Ein- und Ausatmungsventil versehener, am anderen Ende offener Gummischläuche befand. Schließlich wurde noch die Weite der Atemwege nach des Methode von Konzett u. Rössler[7] registriert. Da sich hierbei keine Besonderheiten ergaben, wird auf die Darstellung dieser Kurven in den Abbildungen verzichtet.

Befunde.

5—20 mg/kg Körpergewicht *Novocain* innerhalb 15—60 sec intravenös injiziert führen zu einer Blutdrucksenkung von 10—50 mm Hg. einhergehend mit einer negativ chronotropen und inotropen Herzwirkung. Der Grad der Blutdrucksenkung und Bradykardie wechselt von Tier zu Tier sehr stark. Nach der Novocaininjektion liegt die Reizschwelle des r. p. V., gemessen am Grad der reaktiven Blutdrucksenkung und Vorhofsbradykardie, um das Mehrhundert- bis Tausendfache über der des Vorversuches (Abb. 1). 15—30 min nach der Injektion wird infolge der schnellen Hydrolyse des Novocains (Goldberg, Koster und Warshaw[8], Kisch u. Mitarb.[9], Brodie u. Marck[10], Heim u. Kölle[11]) die Ausgangsreizschwelle wieder erreicht (Abb. 1). Durch 15—30 γ/kg K. G. Physostigmin intravenös wird die durch Novocain erhöhte Vagusreizschwelle rasch stark erniedrigt, wie aus dem in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch zu ersehen ist, der am gleichen Tier im Anschluß an den in Abb. 1 dargestellten Versuch durchgeführt wurde. Während ohne Physostigmin 3½ min nach der Novocaininjektion die Reizschwelle noch bei 0,6 mAmp. liegt, beträgt sie zum gleichen Zeitpunkt, nach 23 γ/kg Physostigmin, nur 0,001 mAmp. Nach Physostigmin sind, wie vor allem aus dem Endteil der Abb. 2 hervorgeht, Intensität und Dauer der drucksenkenden und negativ chronotropen Herzwirkung eines Vagusreizes verstärkt. In den meisten Versuchen lag der Schwellenwert des r. p. V. zwischen 0,0005—0,01 mAmp. In den Versuchen mit von vorneherein geringer Vaguserregbarkeit (Schwellenwert 0,1—0,5 mAmp.) wurde diese durch Novocain trotz Auftretens von Blutdrucksenkung und Bradykardie prozentual nur wenig beeinflußt. In diesen Versuchen konnte aber eine Adrenalin sensibilisierende Wirkung von Novocain

beobachtet werden, die bei den Versuchstieren mit niedriger Vagusreizschwelle fehlte. Durch Adrenalin kann die durch Novocain hervorgerufene Blutdrucksenkung und negativ chronotrope Herzwirkung schlag-

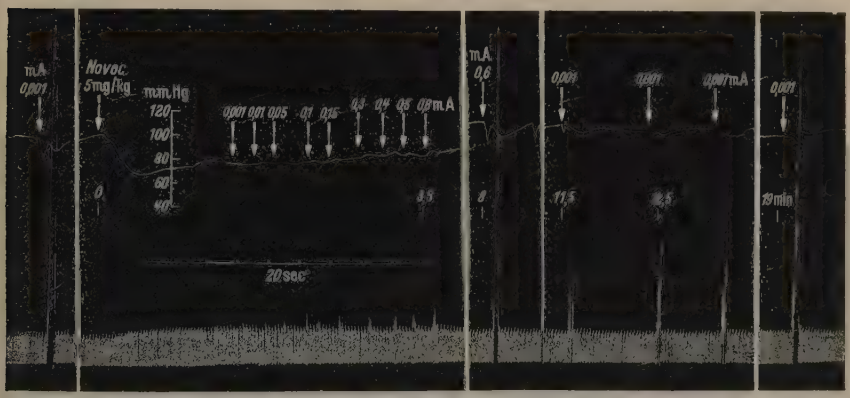


Abb. 1. Katze. Chloralosenarkose. 2600 g. Oben: Druck in Art. femoral. Unten: Frequenz des rechten Vorhofs. Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfs.

artig aufgehoben werden. Von Bedeutung ist, daß die Ansprechbarkeit des Gefäßsystems gegenüber Azetylcholin durch Novocain niemals verändert wird.

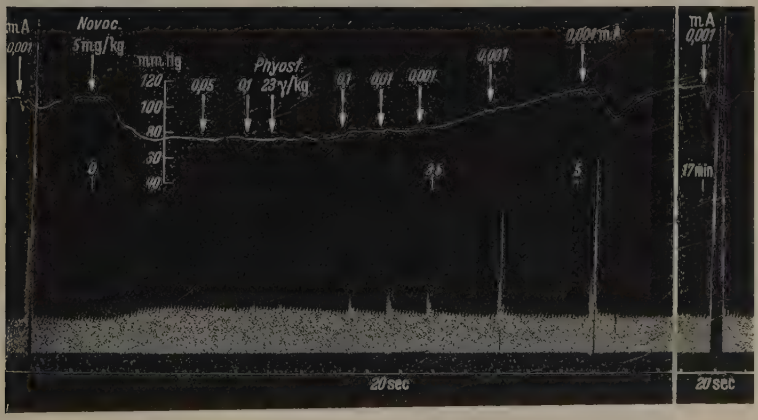


Abb. 2. Wie Abb. 1.

Diäthylaminoäthanol verursacht in dem Novocain äquimolaren Mengen ebenfalls Blutdrucksenkung und eine geringe Abnahme der Herzfrequenz, die beide durch Adrenalin sofort aufgehoben werden können. Der Alkohol ist jedoch ohne Einfluß auf die Vaguserregbarkeit. Dies geht auch daraus hervor, daß nach Aufspaltung des injizierten

Novocains zu Paraaminobenzoesäure und Diäthylaminoäthanol trotz Anwesenheit des letzteren im Organismus der Ausgangsschwellenwert bei Reizung des r. p. V. immer wieder erreicht wird.

Der *Paraaminobenzoesäureester* des *Dimethylaminoäthanols*, ein Ester, der sich vom Novocain nur in der N-alkylgruppe unterscheidet, ruft in, dem Novocain äquimolaren und größeren Mengen ausnahmslos Blutdrucksteigerung und Pulsbeschleunigung hervor.

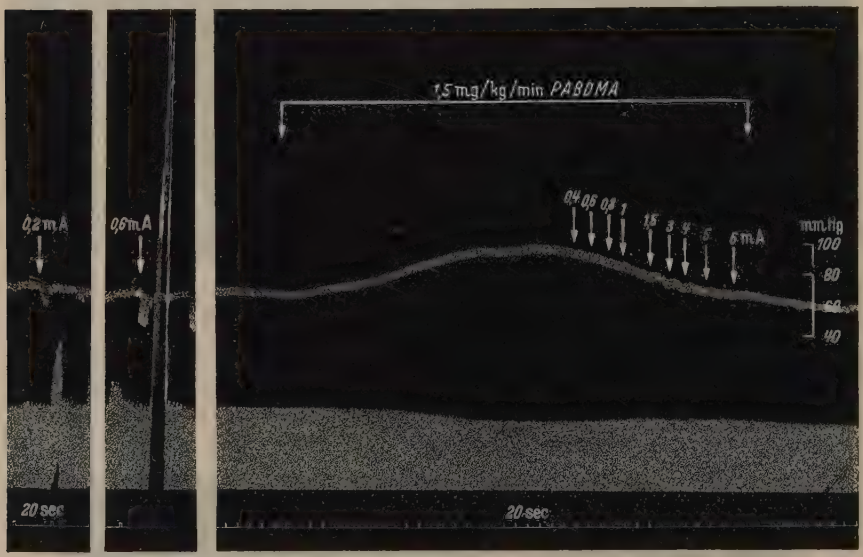


Abb. 3. Chloralosenarkose. Katze. 3100 g. Oben: Druck in Art. femoral. Unten: Frequenz des rechten Vorhofs. Reizung des rechtenpe ripheren Vagusstumpfs. PABDMAP = araaminobenzoesäureester des Dimethylaminoäthanols.

In einem Versuch betrug die Drucksteigerung nach 20 mg/kg des Paraaminobenzoesäureesters des Dimethylaminoäthanols maximal 62 mm Hg, ihre Dauer insgesamt 7 min. Die Vorhofsfrequenz stieg um 60% an und wurde vorübergehend infolge weiterer Frequenzsteigerung unregelmäßig. Die Vagusblockade verhinderte im Gegensatz z. B. zu einer Adrenalinblutdrucksteigerung das Wirksamwerden des Depressorreflexes. Die Reizschwelle für den r. p. V., die vor der Injektion des Esters bei 0,1 mAmp. lag, betrug 5 min danach noch 0,7 mAmp.

Die Vaguserregbarkeit wird durch diesen Ester weniger stark herabgesetzt als durch äquimolare Novocainmengen. Doch kann man durch Erhöhung der Dosis den Vagus blockierenden Effekt nach Intensität und Dauer dem des Novocains angleichen. Abb. 3 zeigt, daß während einer Dauerinfusion von 1,5 mg/kg/min des Paraaminobenzoesäureesters des Dimethylaminoaethanols der Blutdruck anfangs ansteigt und anschließend auf den Ausgangswert zurückgeht. Diese sehr hohe Dosis ist ohne depressive Wirkung auf das Herz. Herz und Gefäßsystem sprechen

während der Infusion selbst auf stärkste Vagusreize nicht mehr an. Nach Zerstörung des Esters wird die normale Reizschwelle, die, wie aus dem Anfangsteil der Abb. 3 hervorgeht, bei 0,2 mAmp. lag, wieder erreicht. Physostigmin verhält sich gegenüber diesem Ester ebenso wie gegenüber Novocain.

Das hydrolytische Spaltprodukt dieser Verbindung, der *Dimethylaminoäthylalkohol*, senkt in gleicher Weise wie Diäthylaminoäthanol

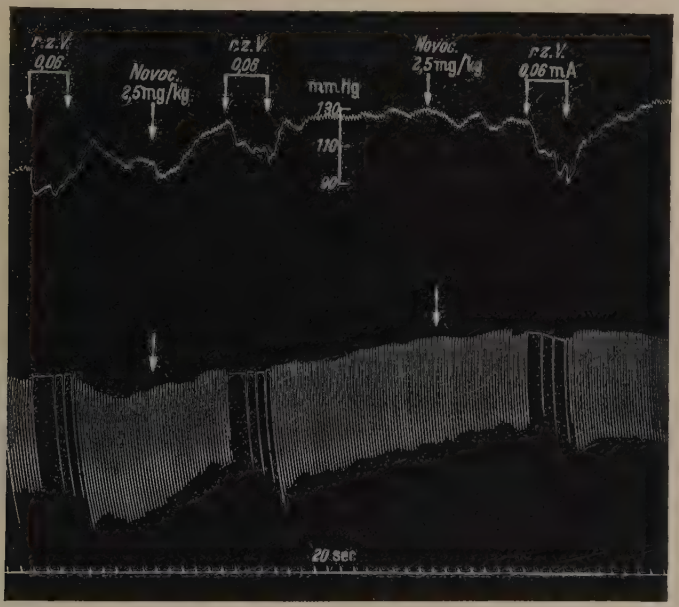


Abb. 4. Katze. Chloralosenarkose. 2500 g. Oben: Druck in Art. femoral. Unten: Atmung. Reizung des rechten zentralen Vagusstumpfs.

vorübergehend den Blutdruck und ist ebenfalls ohne jeden Einfluß auf die Vaguserregbarkeit. Vielleicht ist der in Abb. 3 während der zweiten Hälfte der Dauerinfusion zu beobachtende Rückgang der Blutdrucksteigerung auf die drucksenkende Wirkung des bei der Verseifung des Esters entstehenden Dimethylaminoäthanols zurückzuführen.

Pantocain, der Butylaminobenzoesäureester des Dimethylaminoäthanols verhält sich in isomolaren Mengen hinsichtlich der blutdrucksenkenden und negativ chronotropen Herzwirkung zum Novocain etwa wie 10 : 1, hinsichtlich der Hemmung der Vaguserregbarkeit etwa wie 3 : 1 Der Grund ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß Pantocain nach Beobachtungen von Heim und Amelung[12] die spezifische Cholinesterase, wenn auch nicht so stark wie Physostigmin, hemmt und somit die Wirkung des bei der Vagusreizung gebildeten Azetylcholins verstärkt. Dadurch wird der Vagus blockierende Effekt teilweise wieder aufgehoben.

Reizung afferenter Vagusfasern führt bekanntlich über eine Hemmung des Atemzentrums zu Atemverlangsamung bzw. -stillstand, und über eine Hemmung des Vasomotorenzentrums zur Blutdrucksenkung. Durch Registrierung der Atemtätigkeit und des Blutdrucks während der elektrischen Reizung des zentralen Vagusstumpfs, läßt sich die Ansprechbarkeit dieser medullären Zentren gegenüber afferenten nervösen Impulsen prüfen. Bei dem in Abb. 4 wiedergegebenen Versuch wurden 2mal je 2,5 mg/kg Novocain intravenös injiziert. Es hob die durch Reizung des r. z. V. hervorgerufene Blutdrucksenkung und Bradypnoe nicht auf, besitzt also keinen nennenswerten Einfluß auf die medullären Zentren. Zum gleichen Ergebnis kommt man auch bei Verwendung größerer Novocainmengen.

Besprechung.

Bei der Wirkung von Novocain i. v. haben wir zu unterscheiden zwischen der direkten Wirkung auf das Reizbildungs- und Reizleitungssystem des Herzen, die für die negativ chronotropen und inotropen und somit blutdrucksenkenden Novocaineffekte verantwortlich zu machen ist und der Vagusblockade, die als eine Anästhesierung der peripherstenVagusendigungen aufzufassen ist. Da in einem Stadium, in dem selbst stärkste Vagusreize unwirksam bleiben, Herz und Gefäßsystem auf Azetylcholin normal reagieren, so wird vermutlich durch Novocain die Ansprechbarkeit des Erfolgsorgans gegenüber der Vagusüberträgersubstanz nicht verändert. Adrenalin beeinflußt antagonistisch nur die unmittelbaren Novocainwirkungen, ist dagegen ohne Einfluß auf die Vagusblockade. Auch Physostigmin kann sie nicht durchbrechen. Es setzt nur die durch Novocain stark erhöhte Reizschwelle herab, weil nach Verhinderung der Azetylcholinzerstörung die zur Erreichung der Azetylcholinschwellenkonzentration notwendige Reizstärke geringer sein kann. Der Angriffspunkt des Physostigmins, Adrenalins und Azetylcholins liegt somit peripherer als der des Novocains. Ein Einfluß auf die Erregbarkeit vegetativer Zentren konnte mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Die Sensibilisierung von Herz und Gefäßen gegenüber Adrenalin durch Novocain scheint an einen hohen Vagustonus geknüpft zu sein, der sich in einer geringen Ansprechbarkeit des Erfolgsorgans gegenüber Vagusreizen äußert. Vermutlich steigert eine Dämpfung des peripheren Vagustonus durch Novocain dann die Adrenalinempfindlichkeit.

Der Paraaminobenzoesäureester des Dimethylaminoäthanols, der den Blutdruck erhöht und im Gegensatz zum Novocain keine negativ chronotrope und inotrope Herzwirkung besitzt und ebenfalls in bestimmten Fällen für Adrenalin sensibilisiert, könnte an Stelle des Novocains vor allem bei kreislauflabilen Patienten therapeutisch verwendet werden. Sollte der Vagusblockade bei der intravenösen Novocaintherapie eine

entscheidende Bedeutung zukommen, so könnte die geringere Vagusblockierende Fähigkeit dieses Esters durch Erhöhung der Dosis ausgeglichen werden. Den Alkoholkomponenten der 3 von uns untersuchten Ester fehlen gerade die Eigenschaften, die die therapeutischen Wirkungen des Novocains erklären können. Es ist anzunehmen, daß bei intravenöser Verabreichung Novocain und die übrigen untersuchten Verbindungen auf andere Organe und deren parasympathische Nervengeflechte in ähnlicher Weise wie auf Herz und Herzvagus wirken. Wir sehen den therapeutischen Effekt kleiner intravenös gegebener Novocainmengen in einer zeitweiligen peripheren Ausschaltung des Vagus und einer teilweisen gleichzeitigen Zunahme der Adrenalinempfindlichkeit, also in einer „temporären Umstimmung" der vegetativen Tonuslage.

Zusammenfassung.

Novocain, Pantocain, Diäthyl- und Dimethylaminoäthanol 5 bis 20 mg/kg Körpergewicht wirken (intravenös) auf das Herz negativ chronotrop und inotrop und blutdrucksenkend. Diese Wirkungen werden durch Adrenalin aufgehoben. Der Paraaminobenzoesäureester des Dimethylaminoäthanols dagegen besitzt eine blutdrucksteigernde und positiv chronotrope und inotrope Herzwirkung. Durch Novocain, Pantocain und den Paraaminobenzoesäureester des Dimethylaminoäthanols, nicht dagegen durch die untersuchten Aminoalkohole, wird die Reizschwelle am rechten peripheren Vagusstumpf um das Mehrhundertfache erhöht. Eine Änderung der Azetylcholinempfindlichkeit ist dabei nicht zu beobachten. Bei Versuchstieren mit von vorneherein hohem peripheren Vagustonus tritt eine die Adrenalinempfindlichkeit steigernde Wirkung der genannten Ester in Erscheinung. Die durch Novocain stark erhöhte Reizschwelle wird durch Physostigmin erniedrigt. Die Ansprechbarkeit des Atem- und Vasomotorenzentrums gegenüber afferenten Vagusreizen wird durch Novocain nicht verändert.

Literatur.

[1] Heim, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 51 (1940). — [2] Mancke u. Orzechowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 311 (1948). — [3] Soehring, K.: Pharmazie **4**, 319 (1949). — [4] Hauschild, F. u. Landbeck: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 203 (1948). — [5] Riesser u. Herrgott: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 95 (1950). — [6] Hauschild: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 569 (1943). — [7] Konzett u. Rössler: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 247 (1940). — [8] Goldberg, Koster u. Warschaw: Arch. Surg. **46**, 49 (1943). — [9] Kisch u. Mitarb.: Exper. Med. a. Surg. **1**, 51, 66, 71, 84, 278, 367, 371 (1943). — [10] Brodie u. Marck: J. of biol. Chem. **168**, 299 (1947). — [11] Heim, F., u. G. Kölle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [12] Heim, F. u. Amelung: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 477 (1949).

Dr. Fritz Heim, Marburg, Pharmakol. Inst. d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 284—290 (1951).

Die Bildung von Hämiglobin (Methämoglobin) durch Plasmochin beim Menschen*.

Von

Erich Fischbach.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Juli 1950.)

Schon bei der Einführung des Plasmochins (Pl.) als Malariaheilmittel beobachtete man das Auftreten von Zyanoseerscheinungen, die ursprünglich als Folge einer Kreislaufschädigung angesehen wurden. Später haben Eichholtz, Mühlens, O. Fischer u. a. durch spektroskopische Untersuchung des Blutes festgestellt, daß die Ursache dieser Zyanosen in einer vermehrten Bildung von Hämiglobin (Methämoglobin) besteht.

Aus diesem Grund hat man in der Folgezeit höhere Dosen von Pl. zur Malariabehandlung nicht mehr verwendet und man beschränkte sich auf Gaben von 0,03 g Pl. pro Tag, 3 Tage lang. Diese Dosen reichen aus, daß die selektive Eigenschaft des Pl., die Geschlechtsformen der Erreger zu vernichten, zur Wirkung kommen kann. Bei dieser Dosierung tritt keine Zyanose auf und in den verschiedenen Malariakuren wird diese Dosierung in Kombination mit dem Schizontenmittel Atebrin mit Erfolg angewendet.

O. Fischer u. Weise[1] haben 1927 noch einmal die Hämiglobin-Bildung durch Pl. studiert. Aber sie konnten durch quantitative Schätzung auf Grund der Stärke des Absorptionsspektrums ihre Ergebnisse nur von + bis + + + abstufen. Diese Untersuchungen gaben deshalb keinen genauen Einblick in den Verlauf der Hämiglobin-Bildung durch Pl.

Nach Mühlens wird dem Pl. noch eine rezidivverhütende Wirkung bei der menschlichen Malaria zugesprochen. Diese Eigenschaft tritt aber nur bei höheren Dosen von Pl. in Erscheinung. Wegen der hierbei auftretenden Zyanoseerscheinungen wurde aber dieses Problem nicht mehr weiter verfolgt. Es erschien notwendig, die Verhältnisse durch laufende quantitative Bestimmung des Hämiglobin-Gehaltes im Blut und durch Beobachtung aller Nebenerscheinungen eingehender zu studieren, bevor weitere Versuche beim Menschen mit höheren Dosen von Pl. zur Prüfung der rezidivverhütenden Wirkung angestellt werden.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden zum Teil mit meinem damaligen Mitarbeiter Schedl** in einem ehemaligen Heimatlazarett in den Jahren 1943—45 an Soldaten durchgeführt, die sich freiwillig zur Verfügung stellten. Insgesamt hatten wir

* Nach einem Vortrag in der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München am 13. Dezember 1949.

** S. Schedl: Inauguraldissertation, München 1949.

190 Versuchspersonen, deren Alter zwischen 24 und 35 Jahren war. Es wurden nur Gesunde in gutem Allgemeinzustand und mit Normalgewicht ausgewählt. Die Untersuchungsreihen waren in *6 Gruppen* eingeteilt, so daß wir für die besonders wichtigen ersten 4 Versuchsgruppen je etwa 30—40, für die übrigen Gruppen je 10 Versuchspersonen zur Verfügung hatten. Die Pl.-Gaben wurden unter Aufsicht

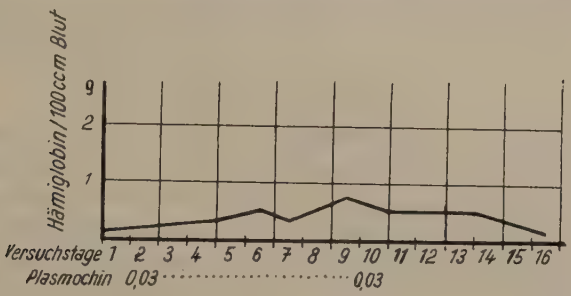


Abb. 1. Verlauf der Hämiglobinbildung bei einer Person der 1. Versuchsgruppe.

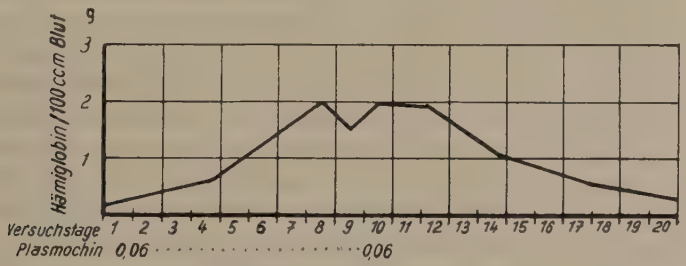


Abb. 2. Verlauf der Hämiglobinbildung bei einer Person der 2. Versuchsgruppe.

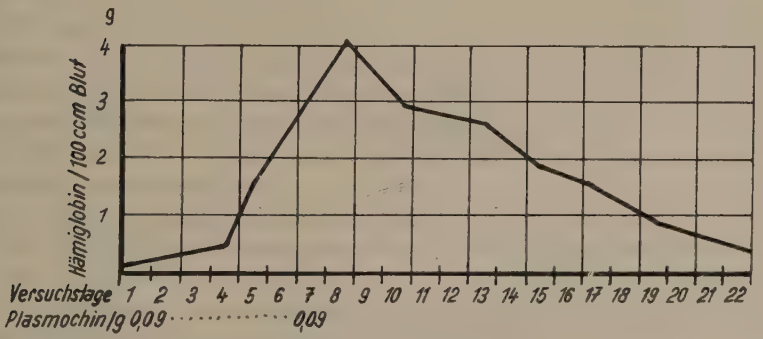


Abb. 3. Verlauf der Hämiglobinbildung bei einer Person der 3. Versuchsgruppe.

meist per os verabfolgt, aber bei jeder Gruppe erhielt ein kleiner Teil der Versuchspersonen die Dosen auch in intramuskulärer Form. Die Bestimmung des Hämiglobins im Blut erfolgte nach der Zyanmethode von Havemann, Jung u. v. Issekutz[2]. In jedem Versuch wurde das Hämiglobin zunächst täglich bestimmt und erst nach Absetzen des Pl. und Abfallen der Kurve erfolgte die Bestimmung nur noch jeden 2. Tag. Die Untersuchungen wurden so lange durchgeführt, bis wieder normale Ausgangswerte auftraten; je nach der Stärke der Hämiglobin-Bildung

dauerte die Beobachtungszeit 16—42 Tage. Alle paar Tage wurde auch der Gesamthämoglobin-Gehalt bestimmt, um den Anteil des Hämiglobins am Gesamthämoglobin berechnen zu können. Die Dosierung bei den einzelnen Versuchsgruppen war folgende:

1. Gruppe: 3mal täglich 0,01 g Pl.; 10 Tage lang; Gesamtdosis 0,3 g (Beispiel Abb. 1). *2. Gruppe*: 3mal täglich 0,02 g Pl.; 10 Tage lang; Gesamtdosis 0,6 g (Abb. 2). *3. Gruppe*: 3mal täglich 0,03 g Pl.; 7 Tage lang; Gesamtdosis 0,63 g (Abb. 3). *4.—5. Gruppe*: Pl.-Mengen wie in Malariakuren (z. B. Regelkur, Kurzkur).

Resultate und Diskussion.

Bei Berücksichtigung aller erhaltenen Kurven zeigten zunächst die Versuchsresultate, daß die Stärke und der Verlauf der Hämiglobin-Bildung durch Pl. beim Menschen individuellen Schwankungen unterworfen ist. Einflüsse von seiten der Darmresorption konnten durch Vergleich mit intramuskulärer Applikation ausgeschlossen werden. Auch ein Einfluß der Ernährung kam bei gleicher Verpflegung *nicht* in Frage. Da niemals eine sichtbare Hämolyse im Blut zu beobachten war, muß es sich um eine intraglobuläre Bildung von Hämoglobin handeln.

Bei etwa zwei Drittel der Versuchspersonen begann eine gesteigerte Hämiglobin-Bildung nach Einnahme einer Gesamtmenge von 0,14—0,27g Pl. im Laufe mehrerer Tage. Ein kleiner Teil der Versuchspersonen reagierte entweder gar nicht mit einem stärkeren Anstieg des Hämiglobinwertes oder erst nach Einnahme noch höherer Dosen. Auch das Auftreten der Höchstwerte an Hämiglobin im Blut war innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen individuellen Schwankungen unterworfen. Bei etwa Zweidrittel der Fälle stand der Höchstwert an Hämiglobin in Beziehung zur verabfolgten Gesamtdosis an Pl. So fanden wir auch in der 3. Versuchsgruppe den höchsten Wert mit 4,1 g Hämiglobin in 100 cm^3 Blut, entsprechend 26,1% Hämiglobin vom Gesamthämoglobin (siehe Abb. 3). Aber auch bei dieser 3. Gruppe reagierte etwa ein Drittel der Versuchspersonen mit wesentlich geringerer Hämiglobinbildung. Als weitere Eigentümlichkeit konnte noch beobachtet werden, daß die Höchstwerte an Hämiglobin nicht immer erst nach Einnahme der Gesamtdosis auftraten, sondern in einzelnen Fällen schon vorher vorhanden waren und trotz weiterer Verabreichung von Pl. ein bestimmter Hämiglobinwert nicht mehr überschritten wurde.

Bei Pl.-Dosen wie sie in Malariakuren üblich sind trat keine vermehrte Hämiglobin-Bildung ein. Die gleichzeitige Verabreichung von Atebrin und Pl. (z. B. bei der Hauerschen Kurzkur) führte zu stärkeren Schwankungen des sehr niedrigen physiologischen Hämiglobinwertes, die wohl methodisch begründet sind.

Das auffallendste Symptom, das bei einer höheren Pl.-Dosierung auftreten kann, ist eine Zyanose. Die Versuchsergebnisse zeigten, daß bei niederen Dosierungen der *1. Gruppe* (Abb. 1) und bei Dosierungen wie sie in Malariakuren in Kombination mit Atebrin verwendet werden, nie Zyanosesymptome beobachtet werden konnten. Jedoch schon bei der

2. Versuchsgruppe mit höheren Dosen (siehe Abb. 2) traten Zyanosen auf, aber deutlich nur bei einem Drittel der Versuchspersonen; diese Zyanosen stellten sich nach Einnahme einer Gesamtdosis von 0,42—0,48 g Pl. am 7.—8. Versuchstag ein. Bei dem restlichen Zweidrittel der Fälle waren auch bei stärkerer Hämiglobinbildung (bis 1,26% Hämiglobin) keine Zyanosen festzustellen.

Bei der *3. Versuchsgruppe* fanden wir in etwa Zweidrittel der Versuche Zyanosezeichen und zwar nach Einnahme einer Gesamtdosis von 0,45—0,63 g Pl. Bei den übrigen Fällen konnten wir auch bei stärkerer Hämiglobin-Bildung keine Zyanosesymptome beobachten, obwohl ein Teil dieser Versuchspersonen das Pl. auch in intramuskulärer Form erhielt. In der Mehrzahl der Zyanosefälle traten die Zyanose-Erscheinungen bei einem Hämiglobin-Gehalt von 1,7 g% auf, entsprechend 13% Hämiglobin vom Gesamthämoglobin. Ein kleinerer Teil dieser Zyanosefälle reagierte auch schon bei niedrigeren Hämiglobinwerten mit Zyanose-Symptomen (z. B. bei 1,1 g%) oder wiederum erst bei noch höheren Werten, z. B. bei 2,4 g% Hämiglobin, entsprechend 16% Hämiglobin vom Gesamthämoglobin (siehe Abb. 3).

Immer reagierte nur ein Teil, allerdings der größere Teil der Versuchspersonen bei höherer Pl.-Dosierung mit Zyanose-Erscheinungen; unter den Zyanosefällen war der Grad der Zyanose sehr verschieden. Es bestanden keine sicheren Gesetzmäßigkeiten zwischen der zugeführten Pl.-Menge, dem Grad der Hämiglobin-Bildung und der Stärke der Zyanose-Erscheinungen. Das Auftreten der Pl.-Zyanosen war ebenfalls wie der Grad der Hämiglobin-Bildung stärkeren individuellen Schwankungen unterworfen. Nur von Hämiglobin-Werten von 2,2—2,4 g% an (entsprechend etwa 16% Hämiglobin vom Gesamthämoglobin) fanden sich regelmäßig Zyanosezeichen, die aber graduell auch Verschiedenheiten aufwiesen. Wahrscheinlich spielt beim Auftreten des Zyanose-Symptoms auch die Stärke der Haut- und Schleimhautdurchblutung und die Kapillarisierung eine Rolle.

Die Versuche zeigten weiterhin, daß in jedem Fall nach Absetzen des Pl. die Hämiglobin-Kurve wieder auf normale Werte zurückkehrte. Bei niedrigerer Dosierung stellte sich der physiologische Hämiglobin-Wert bereits in einigen Tagen nach der letzten Pl.-Gabe ein, bei hohen Hämiglobin-Werten im Verlauf von 2—3 Wochen. In Analogie mit neuen Ergebnissen von Kiese[5, 6] über den Mechanismus der Reduktion des Hämiglobins ist anzunehmen, daß die von uns festgestellten individuellen Schwankungen in der Hämiglobinbildung durch Pl. auf Verschiedenheiten der wirksamen Substratsysteme zurückzuführen sind. Wahrscheinlich setzte bei einem Teil der Versuchspersonen auf Grund besonderer Substratverhältnisse der Rückbildungsmechanismus in gesteigertem Maße ein, so daß es gar nicht zu besonders hohen Hämiglobinwerten

kommen konnte oder ein bestimmter Wert auch bei weiterer Applikation von Pl. nicht überschritten wurde.

Mit der Annahme, daß die wirksamen Substratsysteme in den Erythrozyten nach Art und Konzentration verschieden sein können, ist es erklärbar, daß manche Menschen viel größere Dosen von Hämiglobin-Bildnern vertragen. Bekanntlich können manche Menschen 10—20 g, sogar bis zu 50 g Kaliumchlorat noch vertragen, während bei anderen schon bei wesentlich geringeren Mengen eine starke Hämiglobinämie und eine Zyanose auftritt. Auch bei anderen Hämiglobin bildenden Stoffen sind diese individuellen Schwankungen zu beobachten; z. B. bei Anästhesin, bei nitrathaltigem Wasser, bei Bismutum subnitricum u. a.

Aus unseren Versuchen ist ferner noch zu ersehen, daß das Blut beim Menschen schon von vornherein kleine Mengen von Hämiglobin enthält. Es sind dies die physiologischen Mengen, wie sie bereits von Wolfgang Heubner[3, 4] und seiner Schule festgestellt worden sind. Allerdings erhielten wir mit der Zyanmethode etwas höhere durch die Methode verfälschte Werte. Bei 55 gesunden Versuchspersonen fanden wir im Durchschnitt einen Wert von 0,16 g% Hämiglobin, der nach den neuesten Untersuchungen von W. Heubner u. M. Kiese[4, 7] mit der spezifischen und empfindlicheren CO-Methode als etwas zu hoch angesehen werden muß. Nach diesen Autoren beträgt der Hämiglobin-Gehalt des normalen Blutes beim Menschen 0,10 g%.

Toxische Erscheinungen infolge starker Hämiglobin-Bildung konnten wir trotz der großen Versuchsreihen bei der verwendeten Dosierung von Pl. in keinem Fall beobachten. Auch für das Vorliegen von Kreislaufschädigungen konnten keine Anhaltspunkte gefunden werden; zu diesem Zweck wurden Blutdruckmessungen, EKG-Untersuchungen, Kreislauffunktionsproben und Pulskontrollen vorgenommen. Sauerstoffmangelerscheinungen, wie Atemnot und Herzklopfen, wurden ebenfalls nie beobachtet. Demnach sind die Plasmochin-Zyanosen nur Ausdruck einer individuellen Schwankungen unterliegenden Hämiglobinämie. In orientierenden Untersuchungen konnten wir auch die Bildung tiefergreifender Abbauprodukte des Hämoglobins (Verdoglobine, Heinz-Körperbildung) nicht beobachten; diese können bei unserer Dosierung nicht von Bedeutung sein. Andere bemerkenswerte toxische Nebenerscheinungen, abgesehen von manchmal auftretenden Magen- und Leibschmerzen, konnten ebenfalls nicht beobachtet werden. Vereinzelt stellte sich Neigung zu Schwindelgefühl ein, die aber nicht direkt in Beziehung zum Hämiglobinwert oder zur Zyanose stand.

Nach unseren Beobachtungen liegt kein Grund vor, daß man unter Berücksichtigung des therapeutischen Zieles und bei ärztlicher Überwachung ein Medikament gleich absetzt, wenn eine durch Hämiglobinämie bedingte Zyanose eintritt. Es kommt in erster Linie auf die tatsächlich vorhandenen Hämiglobin-Mengen an. Bei unseren höchsten Werten von 4,1 g% Hämiglobin (entsprechend 26,1% Hämiglobin vom Gesamthämoglobin; siehe Abb. 3) sind trotz des in stärkstem Maße vorhanden gewesenen Zyanose-Symptoms keine toxischen Erscheinungen aufgetreten. Es war immer sehr eindrucksvoll beobachten zu können, wie gut

das Allgemeinbefinden unserer Versuchspersonen war, auch wenn eine sehr starke Zyanose vorhanden war. Die Versuchspersonen hatten nie das Bedürfnis, im Bett zu bleiben.

Die Hämiglobinämie und die durch sie hervorgerufene Hämiglobin-Zyanose hat durch unsere Untersuchungen beim Menschen bis zu einem gewissen Grad ihren Schrecken verloren. Nach KIESE[5] soll der Zustand bei Hunden erst lebensbedrohend werden, wenn 70—80% des Gesamthämoglobins in Hämiglobin umgewandelt sind. Da die in unseren Versuchen angewandten Pl.-Gaben ohne besonderen Schaden vertragen wurden, kann diese höhere Dosierung zur Lösung der Frage, in welchem Maße dem Pl. eine rezidivverhütende Wirkung bei der menschlichen Malaria zukommt, verwendet werden. Damit wäre der Weg für weitere Untersuchungen auch in dieser Richtung offen.

Diese Ergebnisse über die Plasmochin-Zyanosen können auch bei den *Sulfonamid-Zyanosen* Anwendung finden, da es sich bei diesen auch vorwiegend um das Auftreten einer Hämiglobinämie handelt. Allerdings können hier auch tiefergreifende Veränderungen am Hämoglobinmolekül und Schädigungen des erythropoetischen Systems vorkommen. Es wird sich als notwendig erweisen, auch andere Hämiglobin bildende Medikamente, z. B. die neuesten Malariaheilmittel, auf die Stärke der Hämiglobinbildung quantitativ zu untersuchen, bevor man sie als zu toxisch bezeichnet.

Zusammenfassung.

Es wurde zum erstenmal beim Menschen in großen Versuchsreihen der Verlauf der Hämiglobin-Bildung im Blut bei verschieden hoher Dosierung von Plasmochin (Gesamtdosis von 0,3—0,63 g Pl.) laufend quantitativ verfolgt. Sowohl die Hämiglobin-Bildung, als auch die hierbei auftretenden Plasmochin-Zyanosen sind innerhalb der angewandten Pl.-Dosen stärkeren individuellen Schwankungen unterworfen. Die höchsten Hämiglobin-Werte treten nicht immer erst nach Applikation der Gesamtdosis an Pl. auf, sondern in einem Teil der Fälle schon vorher und trotz weiterer Pl.-Gaben nehmen dann die Hämiglobin-Werte nicht mehr zu. In Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen von WOLFGANG HEUBNER und M. KIESE konnten auch wir mit der Zyanmethode eine von vornherein vorhandene, geringe physiologische Menge von Hämiglobin im Blut nachweisen.

Vergiftungen infolge Hämiglobinämie, Kreislaufschädigungen durch Pl. oder andere bemerkenswerte toxische Nebenerscheinungen konnten bei der gewählten Dosierung ebensowenig wie Sauerstoffmangelerscheinungen beobachtet werden. In jedem Fall stellte sich nach Absetzen des Pl. der normale Hämiglobinwert wieder ein, ohne Schädigungen zu hinterlassen.

Auf die Diskrepanz zwischen den Hämiglobinwerten, dem Auftreten und der Stärke der Zyanose in Zusammenhang mit dem Rückbildungsmechanismus des Hämiglobins wurde näher eingegangen. Die in unseren

Versuchen verwendeten höheren Dosen von Pl. können zur Lösung der praktisch wichtigen Frage dienen, wie weit dem Pl. eine rezidivverhütende Wirkung bei der menschlichen *Malaria* zukommt.

Literatur.

[1] Fischer, O. u. Weise: Dtsch. med. Wschr. **33/34**, 1 (1927). — [2] Havemann, Jung u. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [3] Heubner, W.: Erg. Physiol. **43**, 9 (1940). — [4] Heubner, W., u. M. Kiese: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 313 (1947). — [5] Kiese, M.: Klin. Wschr. **5/6**, 81 (1946). — [6] Kiese, M. u. Schwarzkopf: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 267, 288 (1947). — [7] Kiese, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 190 (1947).

Dr. Dr. med. habil. E. Fischbach, München 15, Pettenkoferstr. 30.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 291—296 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Skopje N. R. Makedonia. Jugoslavija (Direktor: Doz. Dr. D. Atanackovic).

Beobachtungen zur Wirkung wäßriger Auszüge aus autolysierter Plazenta auf den Blutdruck und den Karotissinusreflex des Hundes.

Von

D. Atanackovic und G. W. Korting.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Juli 1950.)

Der klinische Ausgangspunkt zu vorliegender Mitteilung war die Beobachtung einiger unerwünschter Nebenwirkungen bei der sogenannten Filatow-Therapie[1], deren Wesen bekanntlich in der Anwendung von etwa 8 Tage steril aufbewahrter, autolysierter Humanplazenta beruht. Dabei kann nach Filatow die Gewebszuführung entweder in Form von Implantation oder durch wiederholte Injektion von (durch Hitzefällung) eiweißarmen, einfachen wäßrigen Extrakten erfolgen.

Derartige Nebenerscheinungen wirken sich nun verschieden aus. Manchmal äußern sich diese klinisch, wie es auch Gaté, Vachon, Bourgeois und Cotte[2] erwähnen, als Urticaria oder sonstige bullöse oder pruriginöse Eruptionen, sind somit also allergischer Natur, oder es kommt mitunter zu recht lebhaften Kreislaufreaktionen, auf die von klinischer Seite bereits 1936 Paschlau[3] anläßlich seiner Versuche über Masernschutz durch Verabfolgung von Plazentaextrakten aufmerksam gemacht hatte.

Obwohl, genau besehen, natürlich solche Kreislaufwirkungen gar nicht so überraschend kommen, da die blutdrucksenkende Wirkung von Extrakten aus den verschiedensten, vor allem aber den stark blutgefäßhaltigen Organen schon seit langem gut bekannt ist, schien uns trotzdem — in Anbetracht des wachsenden Interesses, das der klinischen Überprüfung der Filatow-Methode gegenwärtig gewidmet wird — die Frage einer tierexperimentellen Nachprüfung wert, inwieweit in praxi bei Verwendung ganz einfacher, also nicht besonders aufgearbeiteter Extrakte mit solchen Reaktionen zu rechnen ist.

Aus diesem Grunde haben wir an 8 Hunden die unmittelbare Blutdruckwirkung von wäßrigen Auszügen aus autolysierter Plazenta, meist in der von Filatow für therapeutische Zwecke vorgeschlagenen 10%igen Konzentration bei erhaltenen und durchschnittenen Vagi, wie auch nach Atropinisierung untersucht und des weiteren — im Sinne von Palme[4], wie auch des Genter Autorenkreises, auf den Palme in seinem Nachtrag

ausdrücklich hinweist — als weiteren Indikator für Kreislaufschädigungen das Verhalten des Karotissinusreflexes (gemäß der von Heymans[5] und seiner Schule entwickelten Technik) mit berücksichtigt.

Methodik.

Sämtliche Versuchstiere, bei denen eine Nüchternperiode von einem Tag vorgeschaltet war, befanden sich in Mo/Pentothal-Narkose. Die Blutdruckmessung erfolgte in der üblichen Weise mittels Hg/Manometer blutig in der A. femoralis oder A. carotis und wurde fortlaufend auf der Rußtrommel aufgezeichnet. Zur Verhinderung der Gerinnung befand sich im Manometer und den Verbindungsschläuchen

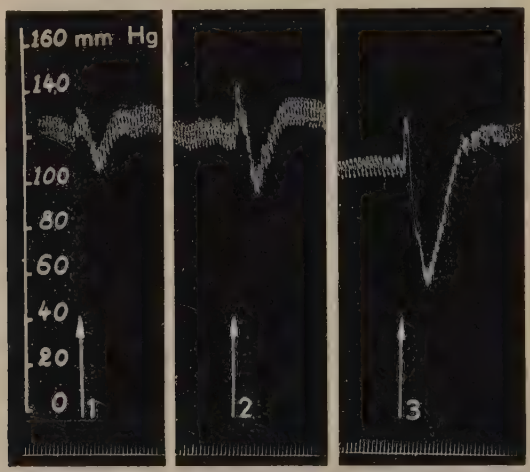


Abb. 1. Hund 9 kg. Pentothal-Narkose. Manometer in der A. femoralis. Beide Vagi intakt. Zeit 3 sec. Pfeil 1: 1 cm³/kg 25%Plazentaextrakt. Pfeil 2: 2 cm³/kg 25% Plazentaextrakt. Pfeil 3: 4 cm³/kg 25% Plazentaextrakt.

6% Natriumkarbonat. Beide Karotiden waren zur Prüfung des Kompressionsreflexes freipräpariert. Ferner wurden zur Schaffung maximaler Belastungsverhältnisse im Sinne unserer Fragestellung entgegen der klinisch gebräuchlichen subkutanen oder intramuskulären Anwendungsweise von solchen Plazentaextrakten sämtliche Einspritzungen nur intravaskulär und zwar meist in eine in die freipräparierte v. saphena eingebundene Kanüle verabfolgt. Die Herstellung der wäßrigen Auszüge war auf die gewöhnliche Art durchgeführt worden[1, 6]. Die Angabe „50% Extrakt" gibt beispielsweise die im Verhältnis 1 : 1 erfolgte Zugabe von isotonischer NaCl-Lösung bei der Herstellung des Organpreßsaftes an, der dann durchweg als Kochsaft zur Anwendung kam.

Ergebnisse.

Ohne wesentlichen Reaktionsunterschied des einzelnen Tieres kommt es bei intravenöser Injektion von wäßrigen Plazentaextrakten häufig noch während der Einspritzung in eindrucksvoller Weise zu einem steilen Druckabfall, welcher innerhalb der nächsten 20—30 sec wieder kompensiert, meist aber sogar nachfolgend überkompensiert wird, ohne daß sonstige Störungen wie Arrhythmien oder ähnliches auftreten.

Weiterhin erscheint bemerkenswert, daß nach *jeder* Einzelinjektion unserer Extrakte vollkommene Erholung bzw. passagere Überkompen-

Abb. 2. Hund 8 kg. Mo-Pentothal-Narkose. Blutdruckmessung in der A. femoralis. Beide Vagi intakt. Zeit 3 sec. Pfeil 1: 2 cm³/kg 10% Plazentaextrakt. Pfeil 2: 10 γ/kg Histamindichlorid.

sation über das Ausgangsniveau eintritt, so daß selbst nach mehrmaliger Injektion aliquoter Versuchsmengen, die bei uns in Abständen von etwa 5 min erfolgte, quantitativ und qualitativ etwa der gleiche Reaktions-

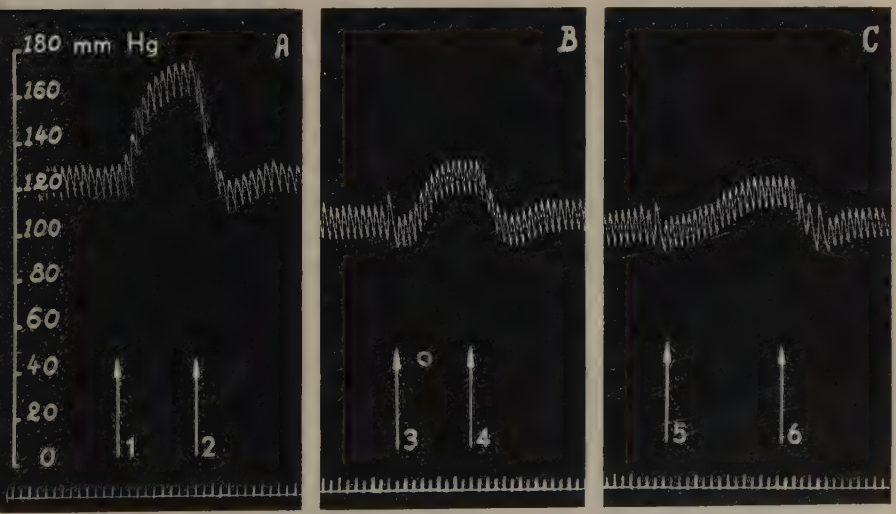


Abb. 3. Hund 10 kg. Mo-Pentothal-Narkose. Blutdruckmessung in der A. femoralis. Beide Vagi undurchschnitten. Zeit 3 sec. *A* Pfeil 1: Abklemmung beider Karotiden. Der Blutdruck steigt von 120 auf 170 mm Hg. Pfeil 2: Abklemmung gelöst. Der Blutdruck fällt auf den Ausgangswert. — Zwischen *A* und *B* intravenöse Injektion von 4 × 2 cm³/kg 10% Plazentalösung im Zeitraum von 20 min. *B* Pfeil 3: Abklemmung beider Karotiden. Der Blutdruck steigt von 105 auf 120 mm Hg. Pfeil 4: Abklemmung gelöst. Der Blutdruck fällt auf das Ausgangsniveau. — Zwischen *B* und *C* intravenöse Injektion von 2 × 2 cm³/kg 10% Plazentaextrakt im Zeitraum von 10 min. *C* Pfeil 5: Abklemmung beider Karotiden. Der Blutdruck steigt von 100 auf 110 mm Hg. Pfeil 6: Abklemmung gelöst. Der Blutdruck fällt auf den Ausgangswert.

ausfall zur Erscheinung kommt. Allerdings führt die mehrmalige Injektion nach und nach zu einer tieferen Einstellung des mittleren Blutdruckes (Abb. 1). Zum anderen erweist sich der Grad des Blutdruckabfalles, abgesehen von der Schnelligkeit der Injektion, deutlich abhängig von der Dosismenge, wie es Abb. 1 ebenfalls darstellt, so daß mit nahezu planimetrischer Genauigkeit steigende Dosis und stärkerer Blutdruckabfall einander entsprechen. Dieses regelmäßige Verhalten erlaubt fernerhin auch eine in ihrem vasodepressorischen Wert unbestimmte Plazentaextraktmenge auf bekannte hypotensive Vergleichslösungen zu beziehen oder umzurechnen. So zeigt Abb. 2 eine derartige Gegenüberstellung von 2 cm^3/kg/10%igem Plazentaextrakt und 10 γ/kg Histamindichlorid (Imido, Hoffmann-La Roche). Schließlich bleibt noch zu erwähnen, daß die eben besprochenen Reaktionsphänomene von uns auch unverändert nach bilateraler Vagotomie oder ausreichender Atropinisierung (1 mg/kg) beobachtet werden konnten.

Die prompte und regelmäßige Wirkung von wäßrigen Plazentaextrakten auf den arteriellen Blutdruck ließ ferner auch eine Abänderung der Reaktionsfähigkeit innerhalb der reflektorischen Kreislaufsteuerung erwarten. Zur Klärung dieser Frage wurde deshalb durch vorübergehendes Abklemmen beider Karotiden das Verhalten des Karotissinusreflexes jeweils nach mehreren Injektionen geprüft. Einen solchen Versuch gibt Abb. 3 wieder. Tatsächlich kommt es also, wie aus unseren Befunden klar hervorgeht, im Laufe einer stärkeren Belastung mit solchen Extrakten zu einer recht deutlichen Abnahme der Kurvenausschläge, was offensichtlich auf eine Ermüdung des Karotissinusreflexmechanismus hinweist.

Besprechung.

Aus den vorliegenden Ergebnissen geht hervor, daß, wie zu erwarten, im Tierversuch wäßrigen Plazentaauszügen, die nach der Filatowschen Vorschrift hergestellt sind, eine einwandfreie und beachtliche Kreislaufwirksamkeit zukommt. Diese äußert sich bei intravenöser Zufuhr solcher Extrakte in einem steilen arteriellen Blutdrucksturz und bei größerer oder wiederholter Einverleibung derartiger Extrakte auch in einer Erschöpfung oder verminderten Reaktivität vegetativer Kreislaufreflexe. Trotzdem müssen wir aber an Hand dieser Versuche die eingangs gestellte Frage wohl dahingehend beantworten, daß bei Zugrundelegung humantherapeutischer Verhältnisse, also bei intramuskulärer oder subkutaner Verabfolgung einiger weniger cm^3 solcher 10%igen Extrakte für den Menschen im allgemeinen eine stärkere Kreislaufgefährdung kaum wahrscheinlich ist und ein solches klinisches Vorkommnis demnach als Ausnahmereaktion besonders kollapsbereiter Inidivduen zu gelten hat.

Daneben ergibt sich aus unseren Versuchen für die Praxis, die auffälligerweise immer noch einer Standardisierung von Plazentalösungen

entbehrt, als vielleicht nicht unwesentliche Folgerung aus dem Umstand, daß die beschriebenen Blutdrucksenkungen am Hund bei intravenöser Zufuhr mit zuverlässiger Regelmäßigkeit eintreten, die Einstellung solcher Präparate vorläufig wenigstens durch diesen Test vorzunehmen, der unseres Erachtens noch etwa 20% Unterschied erfassen würde. Zu bedenken ist freilich, ob überhaupt ein einfacher wäßriger Plazentagesamtauszug nur an Hand seiner blutdrucksenkenden Fraktion, die auch gemäß FEUCHTINGER[7] hinreichend genau durch Messung der Blutdrucksenkung in mm Hg bestimmt wird, in toto zuverlässig beurteilt werden kann.

Obzwar eine weitere Analysierung der Effekte solcher unreiner Extrakte nicht im eigentlichen Programm unserer Untersuchungen stand, glauben wir zum Schluß dennoch auch dazu kurz Stellung nehmen zu müssen, zumal von anderer Seite gegenwärtig in der Diskussion der Plazentawirkung mehr organische Verbindungen wie Zimtsäure[8] oder auch wundhormonähnliche Stoffe[2] in den Vordergrund gestellt werden. Selbstverständlich erlauben unsere Versuche keine diesbezüglich strikten Schlüsse, doch bieten die mitgeteilten Blutdruckkurven grundsätzlich eine auffällige Parallele zu entsprechenden Kreislaufreaktionen z. B. beim anaphylaktischen Schock, der gewöhnlich als Histaminwirkung oder ähnlich aufgefaßt wird. Demnach wäre es wahrscheinlich, daß es sich bei der Therapie von FILATOW, die in der Hauptsache Plazentagewebe, also ein Organ verwendet, dessen Histamingehalt an sich gesichert ist (vgl. POULSSON[9]), dementsprechend vornehmlich um eine Histamintherapie handeln müsse, welche in den Dosen, in denen die Substanz im allgemeinen angewendet wird, z. B. desallergisierend wirksam sein könnte. Das wäre ein Gedankengang, den ähnlich bereits auch POŠTIĆ[10] und PUB[11] ausgesprochen haben. Trotzdem darf nicht übersehen werden, daß in fast allen Organextrakten generell mehrere blutdrucksenkende Substanzen nebeneinander vorhanden sind. Von diesen kommt für die von uns verwendeten thermostabilen Extrakte auch in Anbetracht ihrer Atropinfestigkeit das Cholin bzw. Azetylcholin sicher nicht in Frage. Sehr schwierig ist dagegen eine sichere Abgrenzung gegen den sogenannten 4. Stoff von FELIX u. LANGE[12], der nach den beiden Autoren etwa 60—80% der blutdrucksenkenden Wirkung von Organextrakten ausmachen und andererseits außer in der Milz, am stärksten gerade in der Plazenta enthalten sein soll. Trotzdem sind wir nach Ausweis der vorliegenden Untersuchungen eher geneigt, bezüglich der Wirkungsweise von einfachen wäßrigen Auszügen aus autolysierter Plazenta vorwiegend an einen histaminergischen Reaktionsmodus zu denken, obwohl wir bei den zahlreichen, kurzfristig wiederholten Injektionen am selben Versuchstier z. B. tachyphylaktische Erscheinungen, wie sie dem Histamin eigentümlich sein sollen[13], weder beobachtet noch eine weitere Prüfung unserer Extrakte, die zwar nicht im Vordergrund des Interesses stand, etwa durch intraportale Einspritzung oder Verwendung von Histaminase oder Antihistaminika ausgeführt haben. Als beweisführend für unsere Ansicht möchten wir vielmehr ansehen, daß eine langdauernde Blutdrucksenkung, wie sie nach den Originalangaben von LANGE nach mehrmaliger Einbringung des FELIX-LANGE-Stoffes auftreten soll, nach Applikation unserer Plazentaextrakte nicht in Erscheinung tritt. Zum anderen möchten wir darauf hinweisen, daß an überlebenden Arterien der FELIX-LANGE-Stoff, geprüft an einem besonderen Gefäßpräparat von LANGE u. DONOMAE[14], nach vorübergehender Engerstellung eine deutliche Erweiterung der großen Arterien ausführt[15], während dagegen Histamin bekanntlich nur eine Kontraktion der Arterien bewirkt[16]. Einen solchen histaminergischen Reaktionsausfall, also lediglich Konstriktion des arteriellen

Gefäßabschnittes hat aber der eine von uns (K.) nach Durchströmung überlebender Arterien mit wäßrigen Plazentalösungen, allerdings an einem anderen Gefäßpräparat, erhalten und in einer vorangehenden Mitteilung zusammen mit Uebel beschrieben[17].

Zusammenfassung.

1. Die Injektion von wäßrigen Auszügen aus autolysierter Plazenta bewirkt am Hund bei intravenöser Applikation einen markanten, aber schnell abklingenden Blutdruckabfall, sowie bei wiederholter Zufuhr oder stärkerer Dosis auch eine deutliche Abschwächung des Karotissinusreflexes.

2. Trotzdem dürfte für den Menschen mit Rücksicht auf die humantherapeutisch üblichen Dosismengen und vor allem auch bei subkutaner oder intramuskulärer Anwendungsweise solcher Extrakte das Auftreten unerwünscht lebhafter Kreislaufeffekte äußerst selten zu erwarten sein.

3. Es wird die Möglichkeit besprochen, ob die blutdrucksenkende Eigenschaft solcher Plazentaextrakte nicht vielleicht geeignet ist, den bisher immer noch fehlenden Standard für die Plazentatherapie abzugeben.

4. Schließlich tragen auch diese Versuche zur Stützung der Ansicht bei, das wirksame Prinzip der Filatowschen Gewebstherapie sei hauptsächlich in der wiederholten Verabfolgung kleinerer Histaminmengen zu erblicken, wie sie in solchen Extrakten enthalten sind.

Literatur.

[1] Filatow: Optitscheskaja peresadka rogowizi i tkanewaja terapija. Moskau: Medgis 1945. — [2] Gaté, I., R. Vachon, H. Bourgeois, et I. Cotte: Presse Méd. **1950**, 93. — [3] Paschlau, G.: Münch. med. Wschr. **1936**, 564. — [4] Palme, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **183**, 170 (1936); **185**, 428 (1937). — [5] Heymans, C., I. I. Bouckaert, et P. Regniers: Le Sinus Carotidien. Paris: G. Doin 1933. — Heymans, C., and F. Bayless: Arch. internat. Pharmacodynamie **56**, 419 (1937). — [6] Korting, G., u. A. Keckarowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 59 (1950). — [7] Feuchtinger, O.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 432 (1940). — [8] Gaté, I., R. Vachon, H. Bourgeois, et I. Cotte: Bull. d. la Soc. Franç. de Derm. et de Syph. **1949**, 395. — [9] Poulsson: Lehrb. d. Pharmakologie, 592. Leipzig: S. Hirzel 1944. — [10] Poštić, S.: Med. Arch. Sarajewo **1947**, 44. — [11] Pub, O.: Excerpta Med. Sect. VI, Vol. III, Nr. 12, Nr. 7340 (1949). — [12] Felix, K., u. A. v. Putzer-Reybegg: Münch. med. Wschr. **1930**, 49, 2097. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **164**, 402 (1932); **169**, 214 (1933). — Lange, F.: Münch. med. Wschr. **1930**, 49, 2095. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **164**, 417 (1932). — Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. **44**, 106 (1932). — [13] Karaday, St.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 283 (1936). — [14] Lange, F., u. I. Donomae: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **175**, 416 (1934). — [15] Lange, F., u. I. Donomae: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **175**, 176 (1934). — [16] Dale and Richards: J. of Physiol. **52**, 110 (1918). — [17] Korting, G., u. H. Uebel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 35 (1950).

Dr. G. W. Korting, Tübingen, Univ.-Hautklinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 297—301 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Wirkung zweier neuerer Nitratester auf den Blutdruck*.

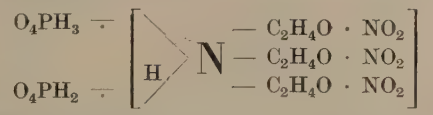
Von

Josef Schunk.

Mit 2 Textabbildungen.

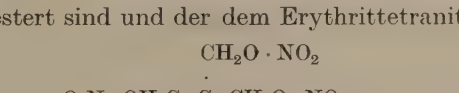
(Eingegangen am 31. Juli 1950.)

Untersuchungen von Derivaten des Pentaerythrits, über die wir an anderer Stelle berichten[1], veranlaßten uns zur Prüfung zweier Nitratester, die in den letzten Jahren Eingang in die Klinik gefunden haben. Es waren dies die unter den Namen „Nitro-Tabletten-Schering" und „Nitro-Riletten" (Riedel-de-Haen) im Handel befindlichen Präparate. Ersteres ist das Biphosphat des Triäthanolamins, eine labile Additionsverbindung, deren 3 Alkoholgruppen mit Salpetersäure verestert sind; sie hat folgende Struktur:



Biphosphat des Triäthanolamintrinitrats

Bei dem zweiten Körper handelt es sich um einen vierwertigen Alkohol mit 5 Kohlenstoffatomen (Pentaerythrittetranitrat), dessen OH-Gruppen gleicherweise verestert sind und der dem Erythrittetranitrat nahesteht:



Pentaerythrittetranitrat

Der Indikationsbereich beider Substanzen soll sich auf die gesamte glatte Muskulatur erstrecken, sich dabei vorzugsweise auf den neuromuskulären Gefäßapparat der Peripherie beziehen, also den bekannten Eigenschaften der Nitrite und Nitrate gleichkommen.

Methodik.

Die Versuche wurden an gesunden Menschen und an unbetäubten weißen Ratten durchgeführt. Am Menschen erfolgte die Blutdruckmessung wie üblich nach Riva-Rocci, an der Ratte mit Hilfe der elektrophotometrischen Methode von Bonsmann[2], die darauf beruht, daß der mit einer Manschette blutleer gestrichene Schwanz lichtdurchlässiger ist als der durchblutete, das bei einem bestimmten Manschettendruck einströmende Blut also einen Galvanometerausschlag hervorruft.

* Herrn Professor E. Wollheim zum 50. Geburtstag.

Sie wurde insofern vereinfacht, als eine Selen-Sperrschicht-Zelle (S_{20} der Firma *B. Lange*-Berlin) ohne Zwischenschaltung eines Verstärkers direkt mit einem empfindlichen Galvanometer verbunden wurde (M. G. 3 der gleichen Firma). Der Nachteil der Methode besteht darin, daß nur Tiere mit gleichmäßiger Rundung der Schwanzwurzel geeignet sind und nach wiederholten Messungen häufiger ein Schwanzödem auftritt. Zu den einzelnen Versuchsserien benutzten wir Tiere gleichen Wurfs im Gewicht von 100—150 g. Zur Standardisierung der Präparate zogen wir Vergleiche mit Erythrittetranitrat und Nitroglyzerin heran.

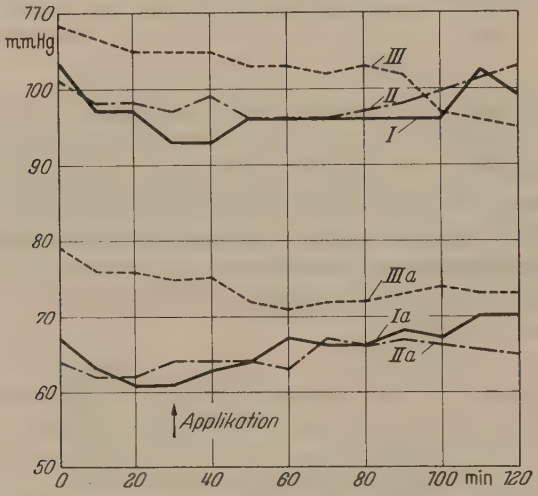


Abb. 1. Wirkung von Triaethanolamin-trinitrat (Nitro-Tabletten-Schering) (I), Pentaerythrittetranitrat (Nitro-Riletten) (II) und Erythrittetranitrat(III) am gesunden Menschen. Mittelwerte. — I—III systolischer, Ia—IIIa diastolischer Blutdruck.

Dosierung.

Die Applikation der Substanzen erfolgte beim Menschen stets innerlich in Form von Tabletten, wobei die Einzeldosen weit über den angegebenen Maximaldosen lagen („Nitro-Tabletten-Schering" 4—20 Tabletten à 0,001 g, „Nitro-Riletten" 4—20 Tabletten à 0,05 g). Erythrittetranitrat wurde in gleichbleibender Dosierung von 0,02 g gegeben. Die Tiere erhielten die Präparate in wäßriger Suspension mit oder ohne Zusatz des indifferenten Kolloids „Adhägon" durch die Schlundsonde verabreicht, die Dosen betrugen 0,2 g pro kg Nitro-Riletten, sowie 0,05 g pro kg Ratte Nitro-Tabletten-Schering. Erythrittetranitrat wurde zu 0,2 g pro kg, Nitroglyzerin zu 0,01 g pro kg Ratte dosiert. Nebenerscheinungen sind kaum aufgetreten. Zuweilen klagten die Versuchspersonen über Druckgefühl im Kopf oder flüchtige Wärmeempfindung im Gesicht. Toxische Blutveränderungen wurden nicht beobachtet, dabei sowohl auf das Auftreten einer Hämiglobinämie wie von HEINZ-Körperchen geachtet. Auch die Tiere vertrugen die Substanzen ohne jede Störung.

Ergebnisse.

A. Untersuchungen am Menschen.

Die in Abb. 1 zusammengestellten Ergebnisse enthalten die systolischen und diastolischen Mittelwerte je einer Gruppe von 9 gesunden Personen (I = Nitro-Tabletten-Schering, II = Nitro-Riletten, III =

Erythrittetranitrat). Die relativ niedrigen Ausgangswerte, die bei Ruhe im Sitzen im Verlaufe von 30 min gewonnen wurden, erklären sich durch die schlechten Ernährungsbedingungen des Jahres 1946, unter solchen Voraussetzungen zuweilen auftretende Hypotonien sind allgemein bekannt. Ein blutdrucksenkender Effekt ist während eines Zeitraumes von 90 min bei keinem der beiden Mittel zu erkennen. Dagegen ergibt Erythrittetranitrat einen Blutdruckabfall von rund 10%.

B. Untersuchungen an der Ratte.

Die Normalwerte an der Ratte werden von BONSMANN[2] zwischen 70—100 mm Hg angegeben. Sie decken sich mit den Ergebnissen, die wir

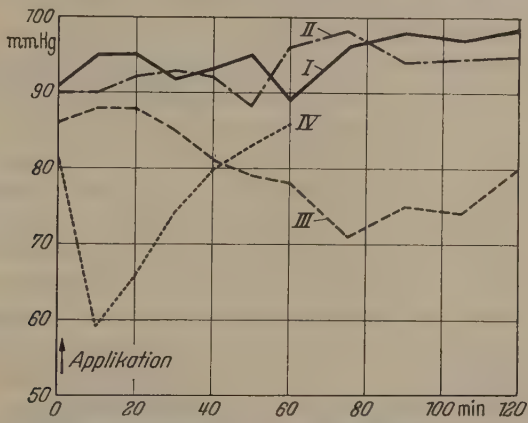


Abb. 2. Wirkung von 0,05 g Triaethanolamin-trinitrat (Nitro-Tabletten-Schering) (I) und von 0,2 g Pentaerythrit-tetranitrat (Nitro-Riletten) (II) je kg an Ratten. Im Vergleich 0,2 g Erythrit-tetranitrat (III) und 0,01 g Nitroglyzerin (IV). Unblutige Blutdruckmessung. Mittelwerte.

bei Einübung der Methode in den Vorversuchen gewonnen haben. Abb. 2 zeigt die aus den einzelnen Messungen errechneten Mittelwerte je einer Tiergruppe. Gruppe I und II (Nitro-Tabletten-Schering, Nitro-Riletten) bestehen aus je 6, Gruppe III und IV (Erythrittetranitrat, Nitroglyzerin) aus je 3 Tieren. Übereinstimmend mit den Resultaten am Menschen zeigt sich auch hier bei 2stündiger Kontrolle das Ausbleiben von Blutdrucksenkungen auf Pentaerythrittetranitrat und Triäthanolamintrinitrat, während auf Erythritetranitrat und Nitroglyzerin ein deutlicher Druckabfall eintritt (20% bzw. 25%).

Diskussion der Ergebnisse.

Wir haben bereits in unserer früheren Arbeit[1] diskutiert, daß die völlige räumliche Symmetrie des Tetramethylolmethannitrats vermutlich seine Reaktionsfähigkeit ändert und abschwächt, so daß die erwartete Nitratwirkung ausbleibt, die z. B. bei gleichen oder sogar geringeren

Dosen von Erythrittetranitrat in unseren Versuchen deutlich wird. Beim Triäthanolamintrinitrat könnte zunächst eine ähnlich rasche und starke Wirkung wie beim Nitroglyzerin oder anderen ein- bis dreiwertigen Alkoholen erwartet werden. Vermutlich bedingt der Amincharakter der Verbindung eine besondere Festigkeit der molekularen Struktur, die infolgedessen nur langsam aufgespalten wird. Eine solche wird z. B. in anderem Zusammenhang von Krantz u. Mitarb.[3] für den langsamen Wirkungseintritt des Isomannitdinitrats wahrscheinlich gemacht.

Da in einer Reihe klinischer Arbeiten (Fischer[4], Stenzel[5], Rössing[6], Dorner u. Rupprecht[7], Rupprecht[8], Spuhler[9], Wagner[10], Gerstlauer[11]) über gute therapeutische Erfolge mit diesen Stoffen berichtet wird, bleiben andere Wirkungsmechanismen zu erörtern, die über die Blutdruckwirksamkeit hinausgehen, denn wir glauben nicht, daß ein grundlegender Unterschied zwischen gesunden und kranken Versuchspersonen besteht, zumal ja Erythrittetranitrat und das früher von uns geprüfte Pentaerythrit-dibrom-dinitrat auch am Gesunden wirksam sind. Ob also im pathologisch gestörten Kreislauf die Wirkungsschwelle für Nitrate herabgesetzt ist, also schon Dosen zur Wirkung kommen, die am Gesunden versagen, erscheint demnach nicht sehr wahrscheinlich. Neuerdings wird von Pfeiffer[12] an Hand kreislaufdynamischer Untersuchungen nach der Methode von Wezler u. Böger die Möglichkeit einer vagotonen Sparstellung des Gesamtkreislaufs unter der Wirkung von Triäthanolamintrinitrat erwogen. Die weitgehenden Folgerungen aus diesen Versuchsergebnissen können wir uns nicht zu eigen machen, weil eine mechanische Kreislaufanalyse mit voneinander abhängigen reziproken Größen kaum kausale Tragfähigkeit haben dürfte. Möglicherweise kommt auch eine gewisse psychodynamische Komponente in Frage, die letzten Endes jedem Arzneimittel zukommt, bei unseren Versuchspersonen jedoch wegfiel, da sie als Institutsangehörige besonders kritisch eingestellt waren. Andererseits hat eine solche bei Herz- und Kreislaufkranken eine besondere Bedeutung, da nach zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahren (Stokvis[13] u. a.) das Gefäßsystem als Haupteinbruchstelle psychischer Reaktionen gelten kann.

Zusammenfassung.

Es wurden zwei neuere Nitratester, die unter den Namen „Nitro-Tabletten-Schering“ und „Nitro-Riletten“ im Handel sind, an Ratten und gesunden Versuchspersonen auf ihre Blutdruckwirksamkeit geprüft. Der Blutdruck wurde am Menschen nach Riva-Rocci, an der Ratte mit Hilfe der elektrophotometrischen Methode bestimmt. Ein blutdrucksenkender Effekt war bei keinem der beiden Mittel nachweisbar. Es ist fraglich, ob die Substanzen einen therapeutischen Fortschritt darstellen und ob sie die länger bekannten Nitratester wie Erythrittetranitrat oder

Nitroglyzerin bzw. das sich vom Pentaerythrit-tetranitrat ableitende und von uns ebenfalls untersuchte Pentaerythrit-dibrom-dinitrat[1] ersetzen können.

Der technischen Assistentin Ingeborg Klempau danke ich für ihre Mitarbeit.

Literatur.

[1] Kalow, W., u. J. Schunk: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 388 (1950). — [2] Bonsmann, M. R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **176**, 460 (1934). — [3] Krantz, Carr, Forman and Ellis: J. of Pharmacol. **67**, 187 (1939). — [4] Fischer, Ch.: D. Dtsch. Ges.Wesen **1946**, 15, 453. — [5] Stenzel, W.: D. Dtsch. Ges.Wesen **1947**, 23, 745. — [6] Rössing, P.: Ärztl. Wschr. **59/60**, 941 (1947). — [7] Dorner, G., u. H. Rupprecht: D. M. W. **45/46**, 607 (1948). — [8] Rupprecht, H.: D. Dtsch. Ges.Wesen **1949**, 32, 1208. — [9] Spühler, O.: Schweiz. med. Wschr. **23**, 518 (1949). — [10] Wagner, S.: Z. Verdgs- u. Stoffw.Krh. **9**, H. 6, 284 (1949). — [11] Gerstlauer, E.: Med. Klin. **3**, 73 (1950). — [12] Pfeiffer, H.: Klin. Wschr. **17/18**, 304 (1950). — [13] Stokvis, B.: Psychol. u. Psychotherapie d. Herz- und Gefäßkranken. N. V. Uitgeversmaatschappij „De Tijdstroom" Lochem (1941).

Dr. Josef Schunk, Würzburg, Med. Univ. Klinik.

Arch. exper. Path u. Pharmakol., Bd. 212, S. 302—310 (1951).

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. W. Hueck).

Histologische Untersuchungen an Versuchstieren über die Wirkung hoher Dicumarol- und Tromexandosen auf die Leber und andere Organe*.

Von
Otto Hueck.

(Eingegangen am 21. Juli 1950.)

Die Cumarinderivate Dicumarol (3,3′-methylen-bis-[4-oxycumarin]) und Tromexan (Bis-3,3′-[4-oxycumarinyl]-essigsäure-äthylester) werden als Antithrombotika seit mehreren Jahren therapeutisch mit gutem Erfolg angewendet. Es existiert über ihre Entwicklung, tierexperimentelle Erprobung und klinische Anwendung im Ausland, hier besonders im amerikanischen Schrifttum und, was das Tromexan betrifft, in der Schweiz, wie auch im Inland eine reichhaltige Literatur. Es sei hier nur auf die Monographie v. Kaullas[1] verwiesen, in der sich zahlreiche weitere Angaben über die wichtigeren Arbeiten auf diesem Gebiet finden.

Es wird heute fast allgemein die Ansicht vertreten, daß diese Mittel spezifisch die Bildung des Prothrombins in der Leber hemmen. In diesem Zusammenhang sei auf die Arbeit von Bayerle, Marx u. Geis[2] hingewiesen, die mit Hilfe von isolierten Organschädigungen durch Peteosthor und Blockade des RES zu dem Ergebnis kamen, daß das Prothrombin allein im Leberparenchym gebildet wird. Auch Smith, Warner u. Brinkhous[3] halten die Leber für die Bildungsstätte des Prothrombins. Ferner sei die experimentell nachgewiesene Tatsache angeführt, daß Leberentfernung zu gewaltigem Prothrombinsturz führt (Andrus, Lord u. Moore[4], Roads[5]) und daß durch Leberschädigungen mit Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff ebenfalls ein Prothrombinsturz herbeizuführen ist (v. Kaulla[6]). Auch Erkrankungen der Leber gehen oft mit Prothrombinsenkung einher (siehe auch Zemplén[7]), sie werden daher im Schrifttum stets als Kontraindikation zur Dicumarol- oder Tromexanbehandlung angeführt.

Über den Vorgang, der sich bei Einwirkung der Cumarinderivate in der Leber abspielt, sind wir noch ungenügend orientiert. Allen, Barker u. Waugh[8] schlossen aus der Verlängerung der Prothrombinzeit, daß entweder eine Zerstörung des

* Herrn Dr. H. Bayerle, dem Leiter der Chemischen Abteilung unseres Instituts, sei für Anregung und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit an dieser Stelle besonders gedankt.

Prothrombins oder eine Herabsetzung seiner Wirkung oder eine Hinderung seiner Bildung stattfinden müsse. Die erste Möglichkeit scheidet wohl schon deswegen aus, weil übereinstimmend beobachtet wurde, daß nach der Einnahme des Mittels bis zum Eintreten der Prothrombinsenkung eine Latenzzeit vergeht, die darauf zurückgeführt wird, daß das im Blut vorhandene Prothrombin erst verbraucht werden müsse. Die genannten Autoren fügen noch hinzu, daß „irgendetwas" im Körper für die Dicumarolwirkung notwendig sei, da bei Zugabe dieses Stoffes zu entnommenem Blut keine Beeinflussung der Prothrombinzeit stattfindet. Unseres Erachtens spricht auch das dafür, daß es sich nicht um eine direkte Wirkung auf das Prothrombin selbst, sondern eben auf seine Bildung handelt. Bingham, Meyer u. Pohl[9] stellten die Hypothese auf, daß die Prothrombinsynthese in der Leber physiologisch gehemmt wird. König[10] schreibt, ohne im einzelnen näher darauf einzugehen, daß Dicumarol eine bremsende Wirkung auf die Prothrombinbildung der Leber habe, daß aber größere Mengen eine Leberschädigung verursachten. Ähnliche Angaben finden wir auch bei zahlreichen anderen Autoren. Lehmann[11] erklärt die Wirkung des Dicumarols dadurch, daß es durch Verdrängung des Vitamin K an ein Ferment tritt, das wahrscheinlich in der Leber für die Prothrombinsynthese zuständig sei, und so blockierend wirke. v. Kaulla[6] glaubt an reversible partielle Leberschädigung. Wright u. Prandoni[12] sind jedoch der Ansicht, daß in ihren Fällen, die eine Hypoprothrombinämie höchsten Grades zeigten, die Leberschädigung, wenn eine solche für die Prothrombinsenkung verantwortlich zu machen sei, so hohe Grade hätte aufweisen müssen, daß eine rasche Wiederherstellung, wie sie durch Bluttransfusionen erreicht wurde, nicht möglich sei.

Alle diese Angaben in der Literatur veranlaßten uns, nochmals Untersuchungen in dieser Richtung mit über längere Zeit verabreichten höheren und hohen Dicumarol- und Tromexandosen an Versuchstieren durchzuführen und die wichtigsten inneren Organe, insbesondere aber die Leber, einer histologischen Untersuchung zu unterziehen. Wir beabsichtigten dadurch einen neuen Beitrag zu folgenden Fragen zu liefern: 1. Sind histologisch Anzeichen dafür zu finden, daß hohe und längere Zeit gegebene Dicumarol- und Tromexandosen sich speziell auf die Leber auswirken und läßt sich dabei ein Befund erheben, der den Schluß auf die Prothrombinsynthese in der Leber bestätigt. 2. Finden sich Veränderungen an anderen Organen, die auf die Wirkung der Antithrombotika zurückgeführt werden können.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß wir nur höhere und hohe Dosen zur Anwendung brachten und daß es nicht unsere Absicht war, über Nebenwirkungen oder Nachteile der Mittel etwas auszusagen, die ja, wie zahlreiche Untersuchungen und die erfolgreiche Anwendung in der Klinik bewiesen haben, bei sorgfältiger Laboratoriumsüberwachung kaum eine Rolle spielen.

Ehe wir zur Besprechung der eigenen Versuche kommen, soll noch ein kurzer Überblick über die bisher im Schrifttum, soweit es uns zugänglich war, vorhandenen Angaben über histologische Untersuchungen bei Tierexperimenten mit Dicumarol bzw. Tromexan gegeben werden, der aus Gründen der Platzersparnis jedoch nur in Stichworten erfolgen kann.

Schofield[13]: makroskopisch lobuläre Zerstörungen in der Leber. Roderick[14]: in der Hälfte der Fälle Gebiete mit herdförmigen Nekrosen (postmortal ?). Bingham,

Meyer und Pohl[15]: keine kennzeichnenden Veränderungen, aber oft Erweiterung der kleinen Gefäße und Kapillaren; mäßige hydropische Degeneration der Leber bei letalen Dosen (Hunde). Chen[16]: zentrale Lebernekrosen in 50% bei Ratten, gelegentlich auch bei Kaninchen, Hunden und Mäusen; Blutungen, Lungenödem. Bollman u. Preston[17]: keine Anzeichen von Schädigung spezifischer Gewebe (Hunde); Erweiterung der kleinen Gefäße und Kapillaren; Blutungen; bei leichter Tetrachlorkohlenstoffschädigung der Leber stärkere und längere Dicumarolwirkung. Lehmann (nach [7]): keine Schädigungen (Kaninchen). McCarter, Bingham u. Meyer[18]: Hundeversuche. 1. Letale und subletale Dosen: Toxische Schädigungen der kleinen Gefäße und Kapillaren; akute Glomerulusschädigungen; toxische und reaktive Schäden in Milzkörperchen und Lymphknoten; keine eindeutigen Leberschäden; nur teilweise Blutungen. 2. Therapeutische Dosen: Kein Befund außer hyperplastischer Reaktion des Lymphgewebes. Die Ansicht, daß Dicumarol durch Destruktion oder Schädigung des Leberparenchyms wirke, wird in Frage gestellt. Bayerle u. Marx[19]: Bei ganz hohen Dosen Nekrose und Verfettung von Leberparenchymzellen; Blutungen (Kaninchen und Ratten). v. Kaulla u. Pulver[20]: Bei hoher und langdauernder Belastung mit Tromexan nur Verfettung in der Leber; Tod durch hämorrhagische Diathese (Ratten und Kaninchen).

Bei klinischer Anwendung des Dicumarols im Schrifttum häufig Angaben über leichte Blutungen bei einzelnen Patienten. Schwere hämorrhagische Diathese oder Verblutungen sehr selten. Todesfälle vereinzelt. Duff u. Shull[21]: Zusammenstellung von 21 Todesfällen, darunter 1 Fall ausführlich: Leichte Lipoidose der Leber, Blutungen in fast allen Organen und Geweben. Shlevin u. Lederer (zit. nach [21]): Erweiterung der Leberkapillaren, Diapedeseblutungen (Gefäßwände immer intakt). McCarter et al.[18]: Bei 5 Sektionen von mit Dicumarol behandelten Patienten keine Befunde.

Wie König[10] fanden auch wir in der Literatur keine Angaben darüber, daß mit Leberfunktionsprüfungen jemals bei Patienten oder Versuchstieren eine Leberschädigung nachgewiesen worden wäre.

Beweis für Dicumarolwirkung auf die Kapillarwände: Matis[23]: Bestätigung der bei ihm zitierten Untersuchungen durch Experimente: Toxische Kapillarschäden häufig, auch schon im Bereich therapeutischer Dosen. Der Erhöhung der Permeabilität entspricht eine Verminderung der Resistenz. Diese Wirkung ist nicht Folge des verringerten Prothrombingehaltes. Kuschinsky u. Ludewig[24]: Ähnliche Ergebnisse bei Mäuseversuchen: Permeabilitätserhöhung tritt rasch ein, ist aber zum Zeitpunkt der Prothrombinzeitverlängerung meist schon erniedrigt. Reiniš u. Kůbík[25]: Bei Tromexan für Permeabilität der Hautkapillaren stets normale Werte.

Eigene Versuche.

Als Versuchstiere wurden männliche weiße Ratten (R) und Kaninchen (H) verwendet. Alle Tiere erhielten neben dem üblichen Grundfutter Dicumarol bzw. Tromexan jeden 2. Tag morgens in den aus der Tabelle ersichtlichen Dosierungen. Die Antithrombotika wurden in Pulverform in etwas angefeuchtetes Brot gemischt und den Tieren unter Kontrolle verabreicht. Bei den Ratten wurden jeweils 2—3 Tiere mit annähernd gleichen Dosen gefüttert. Die Ausdehnung der Versuchsdauer über einen längeren Zeitpunkt wurde deshalb gewählt, weil einmal bekannt ist, daß besonders beim Dicumarol, aber auch — allerdings nur bei hohen Dosen und in leichterer Form (v. Kaulla[6], v. Kaulla u. Pulver[20]) — beim Tromexan eine Kumulierung eintritt, und zum anderen auf Grund von

Angaben, die sich bei Wright u. Prandoni[12] finden. Diese Autoren führen an, daß eine einzelne hohe Dosis weitaus weniger physiologischen und toxischen Effekt zeigt als kleinere Dosen über längere Zeit, eine Beobachtung, die, wie sie angeben, vorher schon von Link gemacht wurde und die dieser auf unvollständige Resorption zurückführte. Die Höhe der Dosierung wurde willkürlich festgesetzt, lediglich bei den höchsten Mengen folgten wir den Angaben über letale Dosen im Schrifttum. Diese Tiere zeigten vor dem Tode Benommenheit, Bewegungsarmut und Freßunlust, während alle anderen Tiere sich während der ganzen Versuchsdauer unauffällig verhielten. Lediglich ein Tier (R 6) kam infolge Verblutung aus einer Bißwunde am Schwanz ad exitum. Die Todesart ist in der Tabelle jeweils angegeben (S. 306).

Sämtliche Tiere wurden sofort nach dem Tode seziert und die Organe direkt nach Herausnahme in Formol fixiert. Zur histologischen Untersuchung kamen jeweils Leber, Niere, Milz, Nebenniere, Herz und Lunge sowie Lymphknoten aus dem Bauchraum. Es wurden Hämatoxylin-Eosin-, van Gieson- und Sudanfärbungen an Gefrierschnitten und bei der Leber auch an Paraffinschnitten ausgeführt. Neben den behandelten Tieren wurden je 2 Ratten und Kaninchen, die unter den selben Stallbedingungen gehalten worden waren, als Kontrolltiere verwendet. Die mikroskopischen Befunde wurden unter genauem Vergleich mit den Schnitten dieser Kontrollen erhoben. Während bei den Kaninchen laufend Bestimmungen der Gerinnungszeit nach Quick (in 100% Plasma) durchgeführt wurden, wurden diese nur bei einem Teil der Ratten vor der Tötung angestellt. Nach den Untersuchungen von Marx[26], Rieben[27] und H. E. Schultze[28] wird durch die Quicksche Einphasenmethode nicht das ganze Prothrombin erfaßt, sondern es spielen vielmehr außer Prothrombin noch mehrere andere Faktoren eine Rolle. Schultze folgert aus seinen Bestimmungen, daß die Gerinnungszeit nach Quick vorwiegend vom Gehalt an sogenanntem Seegerschen Accelerator-globulin abhängt. Wir möchten den Gerinnungszeitbestimmungen nach Quick nach dem eben Gesagten und auch wegen der technischen Schwierigkeiten der exakten Blutentnahme bei Ratten für unsere Versuche keine zu große Bedeutung beimessen und uns lieber auf die Tatsache berufen, daß die Fütterung der Tiere stets unter Kontrolle erfolgte, die angegebenen Dosen also vollständig zugeführt wurden. Immerhin findet sich bei denjenigen Tieren, die höhere und höchste Dosen erhielten und kurz nach der letzten Fütterung getötet wurden bzw. spontan ad exitum kamen, eine, wenn auch keineswegs gleichmäßige, so doch deutliche Verlängerung der Gerinnungszeit nach Quick.

Die Sektionen ergaben durchwegs keinen wesentlichen makroskopischen Befund, wenn man von Blutungen absieht. Die Lebern wiesen zu einem größeren Teil ungleichmäßige Blutverteilung auf, sonst waren makroskopisch keine sicheren Veränderungen zu sehen. Ebenso zeigten alle übrigen Organe makroskopisch keinen pathologischen Befund. Die gefundenen Blutungen zeigten kein verwertbares Verhältnis zur Dosierung, zur Dauer der Verabreichung oder zur Gerinnungszeit nach Quick. Einzelne punktförmige Lungenblutungen, meist subpleural gelegen, wiesen folgende Tiere auf: R 3, R 5, R 6, R 8, R 11, R 13, R 15, R 17, H 3 und H 4. Ausgedehntere Blutungen: R 7, R 9, R 12, R 14, R 18, R 19,

Tabelle.*

Nr.	Gesamtdosis in mg	Versuchsdauer	Todesart	histologischer Leberbefund: Nekrosen	Kernwechsel	lymphat. Reaktion	Kapillarerweiterung
R 1	29 D.	2 Monate	De.		++	++	+
R 2	„	„	„		+	+	(+)
R 3	„	„	„		(+)	(+)	(+)
R 4	40 D.	5 Wochen	S.	++	+++	+	+
R 5	79 D.	3 Monate	De.	(+)	+	+	+
R 6	„	„	S.	(+)	++	+	+
R 7	12 D.	1 Woche	S.	++	+++	+++	++
R 8	45 D.	2 Wochen	N.	(+)	++	+++	+++
R 9	95 D.	1 Monat	De.		++	+	+
R 10	331 D.	10 Tage	S.	(+)	+++	+++	+
R 11	214 D.	5 Tage	S.	(+)	+++	+	+++
R 12	115 T.	6 Wochen	De.		++	+	+
R 13	„	„	„	((+))	+++	+++	++
R 14	„	„	„		+++	++	+
R 15	225 T.	1 Monat	„		++	(+)	(+)
R 16	„	„	„	((+))	+++	++	+
R 17	„	„	„		+++	++	+
R 18	994 T.	1 Woche	N.	(+)	+++	+++	+++
R 19	623 T.	4 Tage	„	((+))	++	+++	+
H 1	120 D.	7 Tage	„		+	++	(+)
H 2	128 D.	„	L.		+	++	(+)
H 3	146 D.	16 Tage	„		++	+	(+)
H 4	138 D.	4 Tage	N.	((+))	++	++	(+)
H 5	10 D.	8 Tage	L.		++	++	(+)
H 6	198 D.	40 Tage	„		++	++	(+)
H 7	400 D.	9 Tage	S.	++	++	++	+
H 8	510 D.	19 Tage	„	(+)	++	+	+
H 9	960 D.	24 Tage	„	(+)	++	+	+++

Erkl.: D.: Dicumarol; T.: Tromexan; De.: Dekapitation; S.: Spontanexitus: N.: Exitus in Narkose; L.: Luftembolie; ((+)): angedeutet; (+): beginnend bzw. gering; +: mäßig; ++: deutlich, bzw. deutlich vermehrt; +++: stark.

H 8 und H 9. An sonstigen Blutungen fand sich folgendes: R 3: vereinzelte punktförmige Hämorrhagien in der linken Nierenkapsel; R 6: Blutung im Bereich der linken oberen Thoraxapertur, im Mesenterium und im Milzhilus; R 7: Diffuse Blutung im ganzen vorderen und seitlichen Thoraxbereich, sowie an der lateralen Bauchwand, retrosternal und im Zwerchfell; R 10: Mehrere Kubikzentimeter blutige Flüssigkeit in den Pleurahöhlen; R 18: Subepikardiale Blutungen und Blutungen im Bereich des Milzhilus; H 2: Großes submuköses Hämatom im Dickdarm

* Infolge Raummangels mußte die Tabelle gekürzt und schematisiert werden. Genauere Einzelheiten können im Patholog. Institut der Univ. München angefordert werden.

mit Imbibierung der anliegenden Darmwandschichten; H 3: Blutige Imbibition im Gewebe um den Magenfundus und entlang des Mesenterialansatzes eines längeren Dünndarmabschnittes; H 7: Blutunterlaufene Gebiete im Bereich der Bauchwand; H 9: Blutungen älteren Datums zwischen Schleimhaut und Serosa des Magens sowie des Dickdarms mit stark blutigem Darminhalt.

Zu den histologischen Leberbefunden muß folgendes bemerkt werden. Unter Kernwechsel verstehen wir die auch bei den Kontrolltieren in gewissem Ausmaß vorhandene Zellmauserung, die sich histologisch darin zeigt, daß stets eine Anzahl von Zellen entweder zwei Kerne, oder aber verschieden große und verschieden chromatinreiche Kerne aufweisen. Diesen an und für sich physiologischen Vorgang fanden wir nun in unseren Fällen teils gering, teils stärker gesteigert. Gewissermaßen als nächste Stufe finden sich dann einige bis viele Zellen, die kernlos sind oder nur noch einen blassen Kernschatten aufweisen. Im nächsten Stadium sieht man kleinere Gebiete mit Pyknose, Karyorhexis und Kernschutt neben den beschriebenen Veränderungen. Die letzte Stufe stellen die eigentlichen Nekrosen dar, bei denen größere Gebiete des Leberparenchyms nur noch aus schmalen homogenen, nekrotischen, kernlosen Zellbalken bestehen und sich reichlich Kernschutt sowie Lymphozyten und Makrophagen finden. In den meisten Schnitten fand sich bei vermehrtem Kernwechsel, beginnenden und stark ausgeprägten Nekrosen auch eine mehr oder minder deutlich ausgeprägte Vermehrung lymphatischer Zellen im Leberbindegewebe, die wir als lymphatische Reaktion bezeichnet haben und als reaktive Maßnahme gegen das im vermehrten Kernwechsel zum Ausdruck kommende Geschehen auffassen möchten. Bei deutlichen Veränderungen im Sinne starken Kernwechsels und beginnender Nekrose finden sich auch in den Kapillaren des Parenchyms stets sehr reichlich Leuko- und Lymphozyten. Weiterhin beobachteten wir, daß die beginnenden Nekrosen fast immer im Bereich stark erweiterter Kapillaren zu sehen waren. Die Kapillarwandungen waren dann stets undeutlich. Veränderungen im Sinne einer vermehrten Permeabilität oder etwa einer serösen Entzündung mit Transsudat in den Disseschen Räumen oder vermehrter Diapedese von Blutkörperchen konnten niemals beobachtet werden. Die Kupfferschen Sternzellen wurden stets unverändert befunden. Die Sudanfärbungen ergaben bei einigen Tieren eine mäßige, meist diffuse, manchmal auch zentrale, vorwiegend kleintropfige Verfettung. Wir möchten jedoch diesen Befunden keine allzugroße Bedeutung beimessen, da ein sicherer Zusammenhang mit den übrigen Leberveränderungen nicht nachweisbar ist. Vielleicht handelt es sich hierbei nur um verschiedene Stadien der Fettresorption und -verarbeitung, wie sie z. B. Holmgren[29] beschrieben hat. Auch sahen wir häufiger, besonders bei Kaninchen, eine ausgesprochene Vakuolenbildung

in den Leberparenchymzellen, die sich bei Sudanfärbung als fettfrei erwiesen. Ohne auch diesem Befund, den wir im wesentlichen auf verschiedene Funktionszustände und verschiedenes Reaktionsmilieu zurückzuführen geneigt sind, größere Bedeutung beizumessen, sei auf die Arbeit von Kettler[30] hingewiesen, der eine sogenannte vakuolige Degeneration der Leberzellen gekoppelt mit örtlicher Erweiterung der Kapillaren bei menschlichen Sektionen feststellte. Vakuolenbildung des Leberzellprotoplasmas fanden auch McCarter u. Mitarb.[18] bei einigen ihrer Hunde. Sie führten sie auf den Ernährungszustand zurück und verneinten einen Zusammenhang mit der Dicumarolwirkung, zumal keine Zeichen von toxischen Gefäßveränderungen bei diesen Tieren gefunden wurden.

Die histologische Untersuchung der übrigen Organe ergab wenig. In den Nieren fand sich zumeist eine mäßige, teils etwas stärkere Erweiterung der Kapillaren, häufig auch in den Glomeruli, die dann sehr blutreich waren. Vereinzelt war etwas vermehrter Kernwechsel und geringe lymphatische Reaktion zu erkennen, darunter auch bei R 6, R 1, R 18 und H 2 kleine Stellen mit zugrundegehenden Kanälchenepithelien, also Befunde, die denen der Leber in etwa entsprechen, aber viel geringgradiger sind. Nur in einem Fall (R 11) fand sich ein Bild, das annähernd einer toxischen Nephrose gleichkam, mit Tubulidegeneration und vereinzelten hyalinen Zylindern. Die Milz zeigte in etwa der Hälfte der Fälle eine mäßige Erweiterung der Sinus mit vermehrtem Blutgehalt und relativ wenig Lymphozyten. Die Keimzentren wiesen jedoch keine Veränderungen auf. Den gleichen Befund konnten wir manchmal in den Lymphknoten erheben. In einem größeren Teil der Lungen sahen wir, entsprechend den schon oben angeführten makroskopischen Befunden, eine Erweiterung der Kapillaren, die dann stets sehr blutreich waren, sowie Blutungen in kleineren und größeren Bezirken, wobei die Alveolen, vereinzelt auch kleinere Bronchien vollständig mit Blut erfüllt waren. Vereinzelt enthielten kleinere Bezirke auch nur Serum. An Herz und Nebennieren konnte in keinem Fall ein pathologischer Befund erhoben werden. Veränderungen an kleinen Gefäßen oder Kapillaren, wie sie von McCarter u. Mitarb.[18] beschrieben wurden, sahen wir nicht. Ebensowenig können wir die von ihm am lymphatischen Gewebe und an den Nieren erhobenen Befunde bestätigen.

Als Ergebnis unserer Untersuchungen können wir zusammenfassen, daß durch Verfütterung von höheren und höchsten Dosen Dicumarol und Tromexan folgende Veränderungen auftreten: 1. Ein stärkerer Kernwechsel der Leberparenchymzellen zusammen mit einer lymphatischen Reaktion im Leberbindegewebe. Diese Veränderungen können stärkeres Ausmaß annehmen und führen dann über Zugrundegehen einzelner Parenchymzellen bis zur ausgesprochenen zentralen Nekrose. 2. In viel geringerem Ausmaße können gleichsinnige Befunde in der Niere auftreten. 3. Eine Erweiterung der Kapillaren, die sich vorwiegend in der Leber, in geringerem Maße aber auch in Niere, Lunge und als Erweiterung der Sinus in Milz und Lymphknoten findet. 4. Eine gesteigerte Permeabilität der kleinen Gefäße und Kapillaren, die, vorwiegend in der Lunge, zu Hämorrhagien führen kann. Dabei spielt zum Zustandekommen der

Blutung zweifellos noch ein anderer Faktor eine Rolle, da eine ausgesprochene hämorrhagische Diathese nicht gefunden wurde, sondern die Blutungen sich in einzelnen Fällen an verschiedenen Stellen äußerten, so daß an einen Locus minoris resistentiae, vielleicht durch rein mechanische zusätzliche Beanspruchung, gedacht werden kann. Im Vordergrund stehen jedenfalls die Leberbefunde, die allerdings, das sei nochmals ausdrücklich betont, in weitaus den meisten Fällen sehr gering und eigentlich mehr ein gesteigerter physiologischer Vorgang sind. Wir schließen jedoch daraus, daß die verwendeten Antithrombotika im wesentlichen auf die Leberparenchymzellen wirken und betrachten unsere Befunde als einen weiteren Hinweis darauf, daß die Wirkung auf das Prothrombin ein uns bisher noch unbekannter chemischer Vorgang ist, der seine Bildung in der Leber hemmt und dabei die Leberzellen beeinflußt. Diese Beeinflussung kann soweit gehen, daß die Regeneration nicht Schritt hält und es zu Schädigungen kommt, die letzten Endes als zentrale Nekrose manifest werden können. Eine morphologisch spezifische und als solche histologisch sicher erfaßbare Ausdrucksform der Antithrombotikawirkung konnte nicht festgestellt werden. Sie war auch nicht mit Wahrscheinlichkeit zu erwarten, da eben die Parenchymzelle bzw. die ganzen Organe auf verschiedene Schädigungen mit derselben bzw. einer sehr ähnlichen Reaktion antworten. Den sicheren Beweis für die Theorie der Prothrombinentstehung und ihrer Hemmung kann man bei kritischer Betrachtung der Dinge nicht antreten und es ist sehr die Frage, ob das morphologisch, zumindest mit den üblichen Methoden, überhaupt möglich ist.

Die Tatsache, daß der Grad der Leberbeeinflussung bzw. -schädigung bei den Ratten in keiner Weise und auch bei den Kaninchen nur annähernd mit der Höhe oder Dauer der Fütterung in Zusammenhang zu bringen ist, läßt sich vorläufig nur dadurch erklären, daß die Tiere eine individuell verschiedene Empfindlichkeit haben und daß unterschiedliche Resorptionsverhältnisse bestehen. Ersteres ist in der Literatur von zahlreichen Autoren sowohl für Tiere als auch für den Menschen betont worden. Abgesehen von der schon oben erwähnten Unspezifität der Gerinnungszeit nach Quick kommt auch hierfür, da eine allgemeingültige Parallelität zwischen ihr und den Befunden ebenfalls nicht zu finden war, ein individuell verschiedenes Reagieren in Frage.

Zusammenfassung.

Es wird zunächst ein Überblick über unser heutiges Wissen um die Wirkungsweise der Antithrombotika Dicumarol und Tromexan und über pathologische Befunde im Tierexperiment und bei Sektionen nach Dicumarol- und Tromexananwendung gegeben. An Hand eigener Tierversuche wird sodann nachgewiesen, daß sich bei höherer Dosierung vorwiegend in der Leber Veränderungen einstellen, die meist gering und

reversibel sind aber bis zur zentralen Nekrose reichen. Die Theorie der Entstehung des Prothrombins in der Leber und der spezifischen Wirkung der Antithrombotika auf seine Bildung in der Leberparenchymzelle erhält durch unsere Untersuchung eine weitere Stütze.

Literatur.

[1] v. Kaulla, K. N.: Klinische Fortschritte auf dem Gebiet der Blutgerinnung. Berlin-München: Urban & Schwarzenberg 1949. — [2] Bayerle, H., R. Marx, u. P. Geis: Z. exper. Med. **113**, 122 (1943). — [3] Smith, Warner and Brinkhous: zit. nach H. E. Schultze: Dtsch. med. Wschr. **75**, 607 (1950). — [4] Andrus, W., J. W. Lord, and R. A. Moore: Surg. etc. **6**, 899 (1939), zit. nach K. N. v. Kaulla: Klin. Wschr. **22**, 205 (1943). — [5] Roads, J.: Ann. Surg. **112**, 568 (1940). — [6] v. Kaulla, K. N.: Klin. Wschr. **22**, 205 (1943). — [7] Zemplén, B.: Ref. Zbl. Path. **82**, 95 (1944). — [8] Allen, E. V., N. W. Barker, and J. M. Waugh: J. Amer. med. Assoc. **120**, 1009 (1942). — [9] Bingham, Meyer and Pohl: zit. nach J. S. Wright and A. Prandoni: J. Amer. med. Assoc. **120**, 1013 (1942). — [10] König, W.: Dtsch. med. Wschr. **75**, 682 (1950). — [11] Lehmann: zit. nach K. N. v. Kaulla: Klin. Wschr. **22**, 205 (1943). — [12] Wright, J. S., and A. Prandoni: J. Amer. med. Assoc. **120**, 1013 (1942). — [13] Schofield, F. S.: J. Amer. vet. med. Assoc. **64**, 553, zit. nach McCarter (siehe [18]). — [14] Roderick, L. M.: J. Amer. vet. med. Assoc. **74**, 314 (1929). — [15] Bingham, Meyer and Pohl: zit. nach Allen, Barker and Waugh: (siehe [8]). — [16] Chen, K. K.: J. Amer. med. Assoc. **120**, 1024 (1942). — [17] Bollman, J. L., and F. W. Preston: J. Amer. med. Assoc. **120**, 1021 (1942). — [18] McCarter, J. C., J. B. Bingham, and O. O. Meyer: Amer. J. Path. XX, 651 (1944). — [19] Bayerle, H., u. R. Marx: Biochem. Z. **319**, 18 (1948). — [20] v. Kaulla, K. N., u. R. Pulver: Schweiz. med. Wschr. **78**, 806 (1948). — [21] Duff, J. F., and W. H. Shull: J. Amer. med. Assoc. **139**, 762 (1949). — [22] Shlevin and Lederer: zit. nach Duff and Shull[21]. — [23] Matis, P.: Dtsch. med. Wschr. **74**, 1576 (1949). — [24] Kuschinsky, G., u. H. Ludewig: Klin. Wschr. **28**, 138 (1950). — [25] Reiniš, Z., u. M. Kůbík: Schweiz. med. Wschr. **78**, 785 (1948). — [26] Marx, R.: Z. exper. Med. **114**, 18 (1943). — [27] Rieben, W. K.: Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung. Basel: Benno Schwabe 1947, zit. nach [28]. — [28] Schultze, H. E.: Dtsch. med. Wschr. **75**, 607 (1950). — [29] Holmgren, H.: Studien über 24-stundenrhythmische Variationen des Darm-, Lungen- und Leberfetts. Helsingfors 1936. — [30] Kettler, L. H.: Virchows Arch. **315**, 587 (1948).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 311—320 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. Weese).

Zur Frage der toxischen Wirkung der Antihistaminica.

Von
Fritz Hahn, Dietrich Plester und Willy Schild.

(Eingegangen am 4. August 1950.)

Die toxischen Wirkungen der Antihistaminica (AH) werden im allgemeinen nicht mit ihren histaminantagonistischen Wirkungen in Zusammenhang gebracht (Meier und Bucher[1]). Namentlich die vorherrschenden zentralnervösen Erscheinungen, welche sich beim Menschen als Schläfrigkeit und beim Tier als Krämpfe dokumentieren, lassen sich schwer als Folge eines Ausfalls physiologisch wichtiger Histaminfunktionen deuten. Dies würde sonst auf noch unbekannte Aufgaben des Histamins im ZNS hindeuten, die schon wegen des geringen Histamingehaltes im ZNS (Kwiatkowski[2], von Euler[3]) nicht sehr wahrscheinlich sind.

Um so überraschender ist aber ein kürzlich von Bovet[4] mitgeteilter Befund, der auf den ersten Blick schlagend das Gegenteil zu beweisen scheint. Es ist nach diesem Autor nämlich möglich, durch vorausgehende subkutane Histamingaben Meerschweinchen gegen sonst sicher tödliche subkutane Neoantergangaben „in fast konstanter Weise" zu schützen. Er bezeichnet auf Grund dieses Versuches den Antagonismus zwischen Histamin und AH als reziprok und überträgt damit eine Vorstellung, die bisher nur für die therapeutische Wirkung zulässig schien. auf den toxischen Wirkungsmechanismus der AH.

Alle Erwägungen darüber, ob man dieser Auffassung zustimmen soll oder nicht, hängen von einer Analyse und Klärung des Bovetschen Effektes ab. Darüber soll im folgenden berichtet werden.

Wir prüften zunächst die Bovetschen Angaben nach, indem wir Meerschweinchen teils nur 150 mg/kg Neoantergan (in 2,5%iger Lösung), teils 5 min vorher 25 mg/kg Histamindichlorid (in 1%iger Lösung) subkutan verabreichten. Die Kontrollen erhielten statt Histamin Kochsalzlösung. Das Gewicht der Tiere betrug 300—500 g. Bei einer anderen Gruppe wurde das Histamin gleichzeitig (aber an getrennten Hautstellen) mit dem Neoantergan verabreicht.

Wir kamen hierbei, wie Tabelle 1 zeigt, zu einer grundsätzlichen Bestätigung der Bovetschen Angaben, jedoch mit der Einschränkung, daß das Histamin bei uns den letalen Ausgang nach Neoantergan in den meisten Fällen nicht verhinderte, sondern nur zeitlich hinausschob. In allen Fällen traten auch die ersten toxischen Erscheinungen (Krämpfe) verspätet auf.

Tabelle 1. *Einfluß von subkutanen Histamingaben auf die Toxizität von subkutan verabreichten Antihistaminica bei Meerschweinchen. Die Zahlenreihen geben die Zeit in Minuten bis zum Auftreten von Krämpfen und bis zum Eintritt des Todes, von der Antihistamininjektion gerechnet, an.*

I. ohne Histamin (Kontrollen)		II. vorher Histamin (25 mg/kg)		III. gleichzeitig Histamin (25 mg/kg)	
Krampf	Tod	Krampf	Tod	Krampf	Tod
		a) 150 mg/kg Neoantergan.			
3	11	19	überlebt	7	8
10	11	39	48	11	14
4	7	19	24	41	61
3	6	28	41	6	9
3	10	12	17	47	überlebt
2	7	25	33	34	74
5	8	8	14	17	30
4	9	keine	überlebt	22	46
1	3	86	überlebt	11	15
7	10	73	93		
		4	9		
		b) 500 mg/kg Antistin.			
8	10			37	67
10	16			keine	überlebt
20	30			keine	180
21	23			23	28
13	19			85	98
14	17			17	28
13	25			25	55
21	26			25	59
41	66				
		c) 50 mg/kg Pyribenzamin.			
9	21			10	35
8	überlebt			17	überlebt
10	30			20	überlebt
4	29			10	80
2	10			20	überlebt
				17	46
				18	106
		d) 70 mg/kg Pyribenzamin.			
3	11	32	überlebt	23	überlebt
2	11	30	56	29	überlebt
3	25	21	51	4	15
2	7			3	überlebt
1	4				
		e) 250 mg/kg Thephorin.			
6	16	30	63	28	65
4	12			6	28
4	15			48	240
7	13			53	84
9	26			50	140
9	12			78	188
4	13				

Man ersieht aus Tab. 1a, daß die Zeit bis zum Tode bei den 10 Kontrolltieren maximal 11 min von der Neoanterganinjektion an beträgt. Diese Zeit wird von den 11 Tieren mit vorheriger Histamingabe 10mal überschritten, und zwar teilweise sehr erheblich. Statistisch läßt sich dieses Ergebnis nach dem Verfahren v. d. WAERDEN (dargestellt bei MARTINI[5]) sichern. Wir erhalten dabei als p_{diff}: 76,7 und als σ_{diff}: 12,2. Das ergibt einen Unterschied, der mehr als das vorgeschriebene Vierfache beträgt. Nach v. SCHELLING[6] ergibt sich eine Treffsicherheit von T = 4,15.

Bei den 9 Versuchen mit gleichzeitiger Histamininjektion wurde die 11 Minutengrenze 7mal überschritten. p_{diff} beträgt hier 64,8, σ_{diff} 14,96. Nach v. SCHELLING[6] ist T = 3,4.

Nicht berücksichtigt sind in Tab. 1 einige Tiere, bei denen wenige Minuten nach der Histamininjektion der Tod unter den Erscheinungen einer Histaminvergiftung (mit dem typischen Obduktionsbefund an der Lunge) eintrat.

Aus der Tabelle 1b, c, d geht noch hervor, daß sich mit Histamin derselbe Effekt auch gegenüber anderen AH (Antistin, Pyribenzamin, Thephorin*) erzielen läßt.

Bei der entscheidenden Frage nach der richtigen Deutung dieses Befundes drängt sich der Einwand auf, daß die bisherige Versuchsanordnung wegen der subkutanen Verabreichung der AH nicht eindeutig ist; denn das Histamin könnte eine Entgiftung der AH durch Hemmung ihrer Resorption aus dem Unterhautgewebe lediglich vortäuschen. Deshalb wurde das Neoantergan durch eine intravenöse Dauerfusion verabfolgt.

Es wurde mit konstanter Geschwindigkeit bis zum Atemstillstand infundiert und der Verbrauch an Neoantergan bestimmt. Bei einer Infusionsgeschwindigkeit von 3 mg/kg/min trat der Tod im Mittel nach 10 min, ähnlich wie in den Versuchen mit subkutaner Injektion, ein. Außerdem wurden Versuche mit noch langsameren Geschwindigkeitsstufen durchgeführt (Tab. 2).

Infusion mit dem HEUWINGschen Infusionsapparat. Gewicht der Meerschweinchen 300—600 g. In Lokalanästhesie wurde die Vena jugularis zur Einbindung der Infusionskanüle freigelegt.

Die gefundenen letalen Dosen sind sicher reell; denn in einer besonderen Versuchsserie brachen wir bei mittlerer Infusionsgeschwindigkeit die Infusion bei 85% der mittleren tödlichen Dosis ab. 3 Tiere blieben am Leben; 2 starben, bevor die 85%ige letale Dosis erreicht war. Das entspricht der Variationsbreite (Tab. 2).

Mit abnehmender Infusionsgeschwindigkeit ändert sich die mittlere letale Dosis nicht signifikant, so daß ein Eliminationsfaktor nicht in Erscheinung tritt. Wohl aber nimmt die Streuungsgröße zu. Dies ist der sichere Ausdruck veränderter pharmakodynamischer Bedingungen bei verlangsamter Infusion, wobei die Verteilung oder die Eliminationsvorgänge betroffen sein können.

Wurde aber Histamin drei Minuten vor Beginn der Neoanterganinfusion in einer Dosis von 25 mg/kg subkutan injiziert, so blieb die

* Die chemischen Formeln der von uns untersuchten AH lauten:
Neoantergan = N — p — Methoxybenzyl — N — dimethylaminoäthyl — α — aminopyridin (Chlorid);
Pyribenzamin = N — Benzyl — N — dimethylaminoäthyl — α — aminopyridin (Chlorid);
Antistin = 2 — Phenyl — benzylamino — imidazolin (Methansulfonat);
Thephorin = 2 — Methyl — 9 phenyl — tetrahydro — 1 — pyridinden (saures Tartrat).

Neoantergantoxizität unbeeinflußt (Tab. 2). Die letalen Neoantergandosen liegen im Streuungsbereich der Kontrolltiere, und die Differenz der Mittelwerte überschreitet in Reihe I (höchste Infusionsgeschwindigkeit) den Fehler der Differenz nur um das 1,16fache; in der Reihe II (mittlere Infusionsgeschwindigkeit) beträgt die Differenz der Mittelwerte sogar nur das 0,54fache des Fehlers der Differenz. Ebenso fehlt ein Unterschied zwischen den minimalen Krampfdosen.

Weiterhin wurde noch bei mittlerer Infusionsgeschwindigkeit das Histamin in drei verschiedenen Dosen zusammen mit dem Neoantergan infundiert. Hierbei lag die mittlere letale Neoantergandosis sogar unter dem Kontrollwert, wenn auch nicht signifikant (Reihe III).

Mit diesem Ergebnis dürfte mit Sicherheit gezeigt sein, *daß in dem* Bovet*schen Befund keine Entgiftung des Neoantergans durch Histamin am Wirkort des Neoantergans zum Ausdruck kommt. Vielmehr ist ein anderer — wenn auch keineswegs uninteressanter — Effekt aufgezeigt, der nur in einer Behinderung der Neoanterganresorption bestehen kann.*

In Tab. 1 weisen die Überlebenszeiten nach subkutaner Neoanterganinfusion bei den Histamintieren eine größere Streuung auf als bei den Kontrolltieren. Auch dies kann als Ausdruck einer Resorptionsverzögerung aufgefaßt werden, wenn man hierzu die Zunahme der Streuung bei Abnahme der intravenösen Infusionsgeschwindigkeit in Tab. 2 in Parallelle setzt.

Theoretisch mußte sich ein Einfluß des Histamins auf die Antihistamintoxizität auch nachweisen lassen durch Hemmung der Erregung nach subletalen Gaben von AH im Zitterkäfig. Hierbei kann der Faktor der Resorption auch bei subkutaner Zufuhr von AH umgangen und die Möglichkeit einer zentral entgiftenden Histaminwirkung geprüft werden, indem man zuerst das AH und auf der Höhe seiner Wirkung das Histamin injiziert. Besonders geeignet erwies sich wegen lang anhaltender Wirkung das Thephorin (40 mg/kg subkutan). Nachträgliche subkutane Gaben von 25 mg bis 50 mg/kg Histamin brachten keinen sicheren Beruhigungseffekt.

Von Interesse sind in diesem Zusammenhang Versuche mit Pervitin (8 bis 12 mg/kg subkutan). Während der vollen Pervitinwirkung verabreichte Gaben von 50 mg/kg Histamin wurden zunächst vertragen, was auf eine nicht unbeträchtliche Antihistaminwirkung des Pervitins schließen läßt. Die Tiere wurden aber durch das Histamin vorübergehend beruhigt, wobei ein charakteristisches Lähmungsbild, vor allem an den hinteren Extremitäten bestand. Nach vielen Stunden gingen die Histamintiere meist doch noch ein. Die Todesursache blieb unklar, da weder Lungenblähung noch Magenulcera als Zeichen einer Histamineinwirkung bestanden.

Die oben erwiesene Resorptionshemmung durch Histamin läßt sich am ehesten durch die periphere Gefäßwirkung des Histamins erklären. Danach wäre sie die Folge einer Endothelschädigung oder einer veränderten Gewebsdurchblutung. Diese müßte der Schutzwirkung der AH zuvorkommen, was eine raschere Resorption des Histamins voraussetzt. Für die Möglichkeit, daß die Resorptionshemmung des Histamins und die Schutzwirkung der AH sich unmittelbar überhaupt nicht beeinflussen, spräche die Tatsache, daß es Kreislaufwirkungen des

Tabelle 2. *Intravenöse Dauerinfusion von Neoantergan beim Meerschweinchen.*

I. Neoantergan 3 mg/kg/Min.				II Neoantergan 1,5 mg/kg/Min.				III 1,5 mg/kg/Min. Neoant. + 0,27 + 0,14* + 0,54** mg/kg/Min. Histamin		IV Neoantergan 0,75 mg/kg/Min.		V Neoantergan 1,5 mg/kg/Min. in Narkose (180mg/kg Veronal i. p.)
— —		nach 25 m/kgg Histamin subk.		— —		nach 25 mg/kg Histamin subk.						
Krampf nach mg/kg Neoant.	Tod nach mg/kg Neoant.	Krampf desgl.	Tod desgl.	Krampf desgl.	Tod desgl.	Krampf desgl.	Tod desgl.	Krampf desgl.	Tod desgl.	Krampf desgl.	Tod desgl.	Tod desgl.
25,3	34,1	12,1	27,5	22,0	40,2	29,7	35,2	18,2	29,2	10,5	25,0	55,0
9,9	26,4	22,0	33,0	11,0	21,5	13,2	38,5	9,9	23,7	6,1	61,1	58,3
15,4	28,6	8,8	27,5	6,6	24,2	13,2	33,6	14,3	23,7	5,8	14,3	74,3
18,7	37,4	13,2	28,6	11,6	35,2	10,5	32,5	11,0	23,7	30,3	54,5	69,9
13,2	28,6	24,2	41,8	23,7	49,5	6,6	24,8	12,1	24,8	33,3	49,5	85,8
12,1	29,7	8,8	27,5	15,4	21,5	10,5	36,3	19,3	23,7	15,4	31,4	
7,7	27,5	15,4	37,4	6,6	31,9	9,4	31,4	13,2	20,9			
13,2	30,8	22,0	34,1	11,6	33,0	11,6	45,7	28,1	45,7			
16,5	31,9	15,4	42,9	16,5	27,5	18,7	40,2	8,8	29,7 *			
26,4	38,5	25,3	41,8	13,2	24,2	13,2	25,3	?	22,6 *			
				14,3	50,6			14,9	33,0 **			
								?	24,8 **			
Mittelwert:												
15,8	31,4 ± 4,12	16,7	34,2 ± 6,40	13,0	32,7 ± 10,46	13,7	34,4 ± 6,42	15,0	27,1 ± 6,8	16,9	39,3 ± 18,45	68,7 ± 12,5

Histamins mit besonderer Resistenz gegenüber AH gibt (Literatur bei Meier u. Bucher[1]). Vielleicht können sich aber auch Histamin und AH bei dem Prozeß der Permeation gegenseitig verdrängen, eine Vorstellung, die nicht mehr so abwegig erscheint, seitdem man für die Permeationsvorgänge neben einfachen physikalischen Prozessen auch chemische Vorgänge verantwortlich macht (Wilbrandt[7]). Versuche mit anderen kreislaufwirksamen Pharmaca sind in diesem Zusammenhang vielleicht von Interesse.

Wir haben selbst inzwischen noch gefunden, daß das Tyramin in hohen Dosen (1—2 g/kg subkutan) eine geringe, aber statistisch gesicherte Erhöhung der Überlebenszeit (im Mittel um das Doppelte) nach subkutanen Neoantergandosen bewirkt, ein Effekt, der bei intravenöser Neoanterganinfusion fehlte.

Es ist für unsere Deutung des Bovetschen Effektes auch nicht uninteressant, daß er sich bei anderen Tierarten nicht nachweisen läßt. Das ist leicht verständlich, wenn man die Histaminwirkung in unserm Sinne in die Peripherie verlegt und berücksichtigt, daß die periphere Histaminwirkung außerordentlich große artspezifische Unterschiede aufweist.

Unsere Erfahrungen erstrecken sich auf Ratten und Mäuse. Bei Ratten besteht kein Einfluß von 50 — 100 mg/kg Histamin auf 200 bis 400 mg/kg Neoantergan subkutan. An Mäusen läßt sich durch vorausgehende Histamingaben die Toxizität von interperitonealen*) Neoantergangaben sogar steigern (Tab. 3). Dieser Befund stimmt mit Bovet u. Walthert[8] sowie Mayer u. Brousseau[9] überein.

Tabelle 3. *Einfluß von subkutanen Histamingaben auf die Toxizität von intraperitoneal verabreichtem Neoantergan bei Mäusen.*

I Neoantergan			II Histamin			III Histamin — Neoantergan			
						Dosis			
Dosis mg/100 g	Anzahl Mäuse	davon tot	Dosis mg/100 g	Anzahl Mäuse	davon tot	Histam. mg/100 g	Neoant. mg/100 g	Anzahl Mäuse	davon tot
9	35	9	—	—	—	5	9	5	4
			25	5	0	25	9	5	4
			50	24	8	50	9	10	9

Die in Tab. 3 mit 5—50 mg/100 g Histamin + 9 mg/100 g Neoantergan behandelten 20 Tiere geben in 85% einen tödlichen Ausgang, die 35 Neoantergantiere ohne Histamin in 25,7%. Die Differenz von 59,3% ist, da nach Koller[10] die größte Zufallsdifferenz 42,5% beträgt, statistisch gesichert. Vergleicht man die mit 5—50 mg/100 g Histamin + 9 mg/100 g Neoantergan behandelten Tiere

* Nach orientierenden Versuchen zeigt sich bei Meerschweinchen auch bei intraperitonealer Neoanterganinjektion die hemmende Wirkung subkutaner Histamingaben.

mit den mit 50 mg/100 g Histamin allein behandelten Tieren (24 Tiere, Tod in 33%), so ergibt sich eine Differenz von 52%. Erlaubt sind 46%. Es ist also sicher ein synergistischer Effekt vorhanden.

Auch der Synergismus läßt sich mit peripheren Histaminwirkungen erklären. Diese bestehen bei der Maus in Kollapswirkungen. Vielleicht addiert sich hierzu die auch den AH eigene blutdrucksenkende Wirkung, zumal eine Schutzwirkung der AH auf die Histaminwirkung bei den Mäusen fehlt. So könnten es beidesmal Gefäßwirkungen des Histamins sein, welche bei dem Meerschweinchen und der Maus zu diametral entgegengesetzten Effekten führen.

Würde das Histamin in das zentral toxische Geschehen der AH eingreifen, so wären artspezifische Unterschiede wohl nicht zu erwarten, da das Vergiftungsbild eines Antihistaminicums bei verschiedenen Tierarten quantitativ und qualitativ ziemlich ähnlich ist, was auf identische Vorgänge schließen läßt.

Wirkliche Antagonisten gegen die toxische Wirkung der AH sind die Narkotika; denn durch Veronalnarkose wurde (Tab. 4) die tödliche Wirkung aller von uns untersuchten AH verzögert oder sogar aufgehoben.

Tabelle 4.

Toxizität und Wirkung der Antihistaminica in Veronalnarkose beim Meerschweinchen. Die Antihistaminica wurden 1h nach Injektion des Veronals verabreicht.

Antihistaminicum	Dosis mg/kg subk.	Ohne Veronal			Mit Veronal (180 mg/kg i. p.)				
		Gesamtzahl	davon letal	Überlebenszeit	Gesamtzahl	davon letal	Überlebenszeit	wieder erwacht	Narkosedauer
Neoantergan	50	2	0	—	—				
	75	2	2	6′; 28′	—				
	100	3	3	11—20′	2	0	—	2	2h; 4h
	150	11	11	6—11′	2	1	2h	1	3h
Pyribenzamin	50	5	4	10—30′	—				
	70	6	6	4—25′	4	0	—	4	18′; 35′; 45′; 2½h
Antistin	300	—			1	0	—	1	9h
	400	5	4	12—40′	1	1	2½h	0	—
	500	14	14	6—66′	1	1	1¼h	0	—
Thephorin	100	2	1	34′	1	0	—	1	90′
	150	5	1	8′	2	1	5h20′	1	9h*
	200	4	4	30—57′	2	1	8½h	1	8h*
	250	8	8	6—26′	1	1	4h13′	0	—
Nur Veronal	—	—	—	—	7	0	—	7	2h; 5h; 7h; 7h; 8h; 8h; 9h

* Vorübergehend leichte Weckwirkung.

Eine Resorptionshemmung schließt der Kontrollversuch in Tab. 2 (Reihe V) mit intravenöser Infusion von Neoantergan in Veronalnarkose aus. Hier ist die mittlere tödliche Dosis um über das Doppelte gegenüber dem Kontrollwert erhöht (signifikante Differenz 5,9), um einen Betrag, der sich ungefähr auch aus den Versuchen mit subkutaner Injektion ergibt.

In diesem Verhalten gleichen die AH anderen Krampfgiften. Wie bei diesen ist die Wechselwirkung mit Narkotika reziprok. Wir finden daher auch eine Weckwirkung der AH auf die Veronalnarkose (Tab. 4). Die einzelnen AH zeigen aber deutliche Unterschiede; am stärksten und schnellsten wirkt Pyribenzamin. Keine Weckwirkung gab das Antistin.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Analyse des Bovetschen Effektes hat somit keinen Beweis dafür ergeben, daß die toxische Wirkung der AH auf ihre histaminantagonistische Wirkung zurückgeführt werden kann. Es sprechen aber auch wirkliche Argumente hiergegen.

Erstens geht die Toxizität verschiedener AH nicht mit der histaminantagonistischen Wirkungsstärke parallel. Für die Histaminwirkung am Meerschweinchendarm ergibt sich nach Meier u. Bucher[1] folgende Reihe: Antistin < Pyribenzamin = Thephorin < Neoantergan, für die Wirkung auf den Histaminbronchospasmus: Thephorin < Antistin < Neoantergan = Pyribenzamin. Für die Toxizität fanden wir (siehe unten) an Mäusen: Antistin < Neoantergan < Thephorin < Pyribenzamin, beim Meerschweinchen (Tab. 4): Antistin < Thephorin < Neoantergan < Pyribenzamin. Deutlich sind die Unterschiede in der therapeutischen Breite vor allem zwischen Neoantergan und Pyribenzamin (Vgl. hierzu auch Winter[11]), obwohl diese beiden Stoffe sich chemisch am nächsten stehen.

Zweitens sind die Vergiftungsbilder bei den verschiedenen AH trotz der gemeinsamen Antihistaminwirkung nicht identisch. Dieses trifft vor allem für die klinischen Nebenwirkungen zu (Meier u. Bucher[1]). Im Tierversuch sind die Unterschiede allerdings wegen der gemeinsamen und äußerlich ähnlichen Krampfwirkung nicht so deutlich. Die von uns ermittelten Unterschiede in der Intensität der erregenden Wirkung zeigen aber, daß der zentrale Vergiftungsvorgang auch hier nicht einheitlich ist. Wir machen hierfür sowohl Unterschiede in den Angriffspunkten als auch in dem Verhältnis von lähmenden und erregenden Wirkungskomponenten verantwortlich (Hahn[12]).

Die Differenzen der Wirkungsbilder stehen in einem bemerkenswerten Zusammenhang mit den Unterschieden im Toxizitätsgrad. Die Giftigkeit einer Substanz ist (gemessen an der letalen Grenzdosis) um so größer, je stärker ihre erregenden Eigenschaften in toxischen Dosen (gemessen an der Weckwirkung) sind. In beiden Punkten stellt das Antistin als schwächster Vertreter das eine und Pyribenzamin das

andere Extrem dar. Thephorin und Neoantergan zeigen ein mittleres Verhalten. Daher gestattet auch der Wirkungstyp keinerlei Beziehungen zu den histaminantagonistischen Grundeigenschaften der verschiedenen Substanzen herzustellen.

Die Beziehungen, die sich zwischen dem Toxizitätsgrad und dem Wirkungsmodus und der chemischen Konstitution ergeben, sind schwer verständlich, da einerseits zwei chemisch so nahe verwandte Stoffe wie das Neoantergan und Pyribenzamin sich in den toxischen Eigenschaften stark voneinander abheben, während andererseits das chemisch ganz aus der Reihe fallende Thephorin in den hier untersuchten toxischen Eigenschaften sich den 3 anderen Stoffen durch ein mittleres Verhalten zuordnet. Es dürfte darum von Interesse sein, daß sich bei den Toxizitätsbestimmungen an Mäusen noch eine Beobachtung ergeben hat, die eine andere Abhängigkeit von der chemischen Konstitution erkennen läßt: Die Unterschiede in der Variationsgröße, auf deren Bedeutung für die pharmakologische Charakterisierung von Substanzen kürzlich KALOW[13] hinwies. Als Maß der Variationsgröße kann die Neigung der Summenprozentkurve im Wahrscheinlichkeitsnetz dienen, die bei logarithmischer Doseneinteilung eine Grade ist. Wir haben an Gruppen von 40—60 Mäusen 5—6 verschiedene Dosen der AH geprüft und mit den Werten für die Letalitätsprozentsätze im Wahrscheichkeitsnetz über dem Logarithmus der Dosen gerade Linien erhalten, aus denen wir LD_{50} und als Maß der Streuungsgröße die Spanne zwischen LD_{10} und LD_{90} ablasen. Wir erhielten als toxische Dosen in mg/100 g mit den Streuungsfaktoren: Für Antistin $12{,}94 \times 1{,}17^{\pm 1}$, Neoantergan $10{,}86 \times 1{,}33^{\pm 1}$, Pyribenzamin $5{,}32 \times 1{,}35^{\pm 1}$ und Thephorin $9{,}20 \times 1{,}98^{\pm 1}$.

Nach diesem Ergebnis ist, worauf schon KALOW[13] bei der Untersuchung der Pervitinreihe hinwies, die Variation eine von der Stärke der toxischen Wirkung unabhängige Größe. Unter Berücksichtigung der chemischen Konstitution ergibt sich, daß nunmehr das einer ganz andern chemischen Gruppe angehörende Thephorin doch durch eine auffallend große Streuung ganz aus der Reihe der drei übrigen chemisch zusammengehörenden Substanzen herausfällt. Die drei letzteren verhalten sich sehr ähnlich, wobei vor allen Dingen auf die Übereinstimmung zwischen Neoantergan und Pyribenzamin hingewiesen sei.

Es könnte sich aus dieser Gegenüberstellung von pharmakologischer Wirkung und Variation ergeben, daß mit der Variationsgröße ein elementarerer Vorgang als der Wirkungsmodus, etwa der der Resorption oder Verteilung, erfaßt wird. Jedoch ist die Zahl der untersuchten Stoffe noch zu klein, um eine solche Schlußfolgerung sicherzustellen.

Zusammenfassung.

1. Der Befund von BOVET, daß durch subkutane Gaben von Histamin die toxische Wirkung subkutaner Neoantergangaben bei Meerschweinchen gehemmt wird, wird grundsätzlich für Neoantergan, Pyribenzamin, Antistin und Thephorin bestätigt. Der letale Ausgang konnte allerdings meist nicht verhindert werden.

2. Bei intravenöser Infusion von Neoantergan ist eine entgiftende Wirkung des Histamins nicht nachweisbar, gleichgültig ob es subkutan gegeben oder gleichfalls intravenös infundiert wird.

3. Bei Mäusen wird durch vorherige Gaben von Histamin die Neoantergantoxizität (in Übereinstimmung mit der Literatur) erhöht.

4. In Veronalnarkose ist die toxische Wirkung des Neoantergans auf Meerschweinchen sowohl bei subkutaner Gabe als auch bei intravenöser Infusion vermindert.

5. Auch andere Antihistaminica (Thephorin, Pyribenzamin, Antistin) zeigen in Veronalnarkose eine verminderte Toxizität. Umgekehrt zeigen die Antihistaminica eine Weckwirkung. Diese ist bei Pyribenzamin am stärksten und bei Antistin am schwächsten. Es besteht eine Beziehung zwischen dem Toxizitätsgrad und der Intensität der erregenden Wirkung toxischer Dosen.

6. Eine andere Abhängigkeit von der chemischen Konstitution ergab sich in Versuchen an Mäusen mit Neoantergan, Pyribenzamin, Antistin und Thephorin durch die Neigung der Letalitätsprozentkurve im Wahrscheinlichkeitsnetz. Hierbei zeigt das Thephorin eine besonders starke Variation.

7. Aus der Gesamtheit der Versuche ergibt sich, daß die toxische Wirkung der Antihistaminika eine von der histaminhemmenden Wirkung unabhängige Erscheinung ist und daß ein reziproker Antagonismus zwischen Histamin und Antihistaminicum in Bezug auf die toxische Wirkung nicht besteht. Der Bovetsche Befund, der diese Möglichkeit nahelegt, wird durch eine resorptionshemmende Wirkung des Histamins auf subkutan zugeführte Antihistaminica erklärt.

Literatur.

[1] Meier, R., u. K. Bucher: Fortschritte der Allergielehre. Bd. II. Basel u. New York: S. Karger 1949. — [2] Kwiatkowski, H.: J. of Physiol. **102**, 32 (1943). — [3] v. Euler, U. S.: Z. Vit.-Horm.- u. Fermentforschg **2**, 596 (1948/49). — [4] Bovet, D., et F. Bovet-Niti: Médicaments du système nerveux végétatif. Basel u. New York: S. Karger 1948, S. 805. — [5] Martini, D.: Methodenlehre der Med.-Klin. Forschg. Berlin-Göttingen 1947, S. 23. — [6] v. Schelling, H.: Weichardts Erg. **24**, 87 (1941). — [7] Wilbrandt, W.: 17. Tagung d. Dtsch. Pharmak. Ges. Bad Nauheim 1950. — [8] Bovet, D., u. F. Walthert: Ann. pharmaceut. franz. Suppl. **1944**. — [9] Mayer, R. L., u. D. Brousseau: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **63**, 187 (1946). — [10] Koller, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig 1943. — [11] Winter: J. of Pharmacol. **90**, 224 (1947). — [12] Hahn, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D.) **205**, 552 (1948). — [13] Kalow, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (D.) **207**, 301 (1949).

Prof. Dr. Fritz Hahn, Düsseldorf,
Pharmakologisches Institut der Med. Akad., Moorenstraße 5.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212., S. 321—330 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Direktor: Prof. Dr. Fritz Eichholtz).

Genese und Behandlung des toxischen Lungenödems.

Von
Willi Riechert.

(Eingegangen am 15. August 1950.)

Es gibt eine Reihe von Arzneistoffen, die bei entsprechender toxischer Dosierung im Tierexperiment ein Lungenödem verursachen. Neben dem Adrenalin erzeugen von den Adrenalin-Ephedrin-Körpern das Corbasil, das Sympatol und die Base B des Ikorals ein Lungenödem[1].

Eine wesentliche Toxizitätssteigerung auch im Sinne des Lungenödems läßt sich vorwiegend beim Adrenalin, Corbasil und in geringerem Maße auch beim Sympatol durch den Zusatz von Kokain erzielen. Auch das Kokain wird durch Adrenalin in seiner letalen Dosis herabgesetzt[1]. Auf diesen toxischen Synergismus, gemessen am Symptom des Lungenödems, machten zuerst Eichholtz und Hoppe[2] aufmerksam.

Durch die Untersuchungen von Jarisch[3] wurde das toxische Cardiazol-Lungenödem bekannt. In früheren ähnlichen Untersuchungen wurde auch beim Veratrin, Strophanthin und Akonitin nach suboccipitaler Gabe ein toxisches Lungenödem beobachtet[4]. Für das Auftreten solcher toxischer Lungenödeme machte Jarisch neben der Verlagerung des Blutes aus dem Splanchnikusgebiet und der Peripherie in den kleinen Kreislauf einen „örtlichen Vasomotorenfaktor in den Lungen", ausgelöst durch zentrale Reizerscheinungen rhombenzephalischer Gebiete mitverantwortlich und versuchte durch entsprechende pharmakologische Maßnahmen diese Anschauung zu beweisen. Das Cardiazol-Lungenödem tritt auch nach unterschwelliger Cardiazolgabe (nicht Krampfdosen) auf, wenn diese sehr schnell aufeinanderfolgen und das Cardiazol noch nicht völlig entgiftet ist[5].

Auch nach doppelseitiger Vagotomie bildet sich ein Lungenödem (Weiser und Rienmüller, Rummel und Driesen[6]), ebenso nach Abklemmung der Hirngefäße[7] sowie nach Entfernung des Nervus depressor und nach Zerstörung des Sinus caroticus[8].

Das toxische Adrenalin-Lungenödem ist von den genannten toxischen Ödemen am eingehendsten hinsichtlich der Genese und Therapie untersucht worden. Luisada[9] versuchte, dieses durch Pharmaka wie Histamin, Hypnotika, Atropin, Cardiazol, Koffein usw. und auch durch operative Maßnahmen wie doppelseitige Vagotomie, Splanchnikotomie und Exstirpation bestimmter Hirnteile zu verhindern oder wenigstens in seinem Grad einzuschränken. Zum Teil sind positive Effekte erzielt worden.

Da man neben dem Kreislauffaktor und den örtlichen patho-physiologischen Vorgängen in der Lunge selbst noch einen zentralen Faktor, der wahrscheinlich den Grad der Permeabilität der Lungengefäße mitbestimmt, für die Entstehung des Lungenödems verantwortlich machte, so versuchte Glass[10] durch Stichverletzungen in bestimmten Hirnregionen das toxische Adrenalin-Lungenödem zu verhüten. Nach diesen Untersuchungen zu urteilen, scheint an der Grenze des

Zwischen- und Mittelhirns in der Vierhügelgegend eine Stelle zu liegen, deren Verletzung die Lungengefäße für Reize des Adrenalins im Sinne einer Erweiterung unempfindlich bzw. weniger empfindlich macht.

Da das Erscheinungsbild des toxischen Lungenödems durch die genannten Pharmaka Cardiazol, Veratrin usw. mit dem des Adrenalin-Lungenödems sehr viel Gemeinsames aufweist, soll in der vorliegenden Arbeit der pharmakologische Beweis der gemeinsamen Genese der verschiedenen toxischen Lungenödeme erbracht werden. Wir gingen in unseren Untersuchungen von der Vorstellung aus, daß für das Auftreten eines toxischen Lungenödems der sympathische Anteil des vegetativen Nervensystems wesentlich mitbeteiligt ist. Es gelingt nämlich, das toxische Adrenalin-Lungenödem durch Gynergen als Sympathikolytikum zu verhindern. So war es naheliegend, diesen Test auch auf das Cardiazol-Veratrin-Lungenödem usw. anzuwenden, um durch diese pharmakologische Maßnahme bei Verhinderung solcher Ödeme auf die gleiche Genese schließen zu können. Die Versuche mit Adrenalin, Cardiazol und Veratrin wurden im Jahre 1944 gemeinsam mit ZIMMER[11] durchgeführt.

Versuche.

1. Versuche mit Adrenalin und Gynergen.

In Tabelle 1 sind die Adrenalinversuche zusammengefaßt, die an Ratten durchgeführt wurden. 5 mg/kg Adrenalin i. m. gespritzt, erzeugen bei allen Versuchstieren (7 Ratten) ein Lungenödem, das nach

Tabelle 1. *Versuche mit Adrenalin und Gynergen.*

Zahl der Tiere	Durchschn. gew.	Adrenalin	Gynergen	eingegangen nach Injektion v. Adrenalin		getötet nach Injektion v. Adrenalin		Lungengewicht 100 g je Tier	Lungenödem
	g	mg/kg	mg/kg	Zahl	Min.	Zahl	Min.		
7	180	5	—	7	8	—	—	2,0	+
6	108	5	0,5	2	15	4	150	1,8	+
6	105	5	1,0	3	120	3	240	2,0	+
11	100	4	2,5			11	120	1,4	+
6	125	4	5,0			6	120	0,9	—

durchschnittlich 8 min tödlich verläuft. Das Durchschnittsgewicht der Lungen bezogen auf 100 g Tier betrug 2,0 g. In Kontrollversuchen an 43 Ratten ohne Lungenödem betrug dieses Durchschnittsgewicht der Lungen 0,81 g/100 g (siehe Tab. 2). Wenn in der analogen Versuchs-

Tabelle 2. *Kontrollen der Lungengewichte.*

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht	Lungengewicht je 100 g/Tier	Lungenödem	Zahl
43	180,3	0,81	—	—

anordnung mindestens $^1/_2$ Std vor der Adrenalin-Injektion 0,5 mg, 1,0 mg, 2,5 mg Gynergen pro kg Tier gegeben werden (i. m.), so kann mit diesen Dosen das Adrenalin-Lungenödem nur teilweise verhindert werden. Bei 5 mg/kg Gynergen wurde bei allen Versuchstieren das Lungenödem verhindert. Außerdem zeigte sich, daß die Tiere ohne toxische Adrenalinsymptome die letale Dosis von Adrenalin überlebten.

In einer zweiten Versuchsserie wurde die Frage geklärt, wie lange diese Lungenödem-verhindernde Dosis von Gynergen wirksam ist (Tab. 3). Bis zu 7 Stunden nach der Gynergengabe wurde das Adrenalin-Lungenödem verhindert.

Tabelle 3. *Versuche über die zeitliche Dauer der Lungenödem-verhindernden Wirkung des Gynergens.*

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht	Adrenalin	Gynergen vor Adrenalin-Injektion		getötet nach Injektion von Adrenalin		Lungengewicht je 100 g Tier	Lungenödem
	g	mg/kg	mg/kg	St.	Zahl	Min.		
2	100	4	5	1	2	180	0,8	—
2	100	4	5	2	2	120	1,0	—
4	120	4	5	3	4	120	1,0	—
2	100	4	5	4	2	180	1,0	—
4	110	4	5	5	4	120	0,8	—
4	185	4	5	6	4	60	1,0	—
2	135	4	5	7	2	60	1,1	—

2. Versuche mit Cardiazol und Gynergen (Tab. 4).

Nach der i. m. Gabe von 0,2 g/kg Cardiazol gehen alle Versuchstiere (6 Ratten) unter heftigen Krämpfen von der durchschnittlichen

Tabelle 4. *Versuche mit Cardiazol und Gynergen.*

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht	Cardiazol	Gynergen	eingegangen nach Injektion von Cardiazol		getötet nach Injektion von Cardiazol		Lungengewicht je 100 g Tier	Lungenödem
	g	g/kg	mg/kg	Zahl	Min.	Zahl	Min.		
6	122	0,2	—	6	30	—	—	1,3	+
11	108	0,2	5	9	30	2	60	1,1	—
10	122	0,1	—	10	30	—	—	1,6	+
9	125	0,1	5	5	20	4	60	0,8	—

Dauer von 30 min ein. Bei 0,1 g/kg Cardiazol zeigen die Krämpfe die gleiche Durchschnittszeit, jedoch ist das Lungengewicht je 100 g Tier höher als bei 0,2 g/kg Cardiazol. Bei vorheriger Gabe von Gynergen (5 mg/kg) zeigten die Versuchstiere trotz schwerer Krämpfe nicht mehr den Befund des Lungenödems.

3. Versuche mit Coramin und Hexeton.

Nach den eben besprochenen Befunden war es erwünscht, in der gleichen Weise auch das Coramin und Hexeton zu untersuchen. Hier

Tabelle 5.

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht g	Dosis mg/kg	Gynergen mg/kg	eingegangen Zahl	getötet Zahl	Lungengewicht je 100 g Tier	Lungenödem
			Hexeton				
9	90	75	—	9	—	1,6	7
3	116	75	—	3	—	1,3	1
2	257	15—20	—	2	—	0,87	—
			Coramin				
3	116	500	—	3	—	1,0	—
9	215	300—375	—	7	2	0,81	—

zeigte sich bei letaler Dosierung des Coramins kein Lungenödem (Tab. 5). Nach unseren früheren Untersuchungen gemeinsam mit CONETTE[12] ruft das Hexeton bei letaler Dosierung ein Lungenödem hervor. Nach unseren neueren Untersuchungen ist dieses jedoch nicht einheitlich wie beim Adrenalin und Cardiazol.

4. Versuche mit Veratrin und Gynergen.

Veratrin wurde Meerschweinchen in einer Dosis von 50 γ (in 0,02 cm³ physiologischer Kochsalzlösung) suboccipital injiziert (Dosis nach JARISCH[4]).

Die Suboccipitalpunktion führten wir in folgender Weise durch: Das Meerschweinchen wurde in Bauchlage auf einen kleinen Operationstisch gespannt, der Kopf nach vorn geneigt und mit einer feinen Kanüle vom Hinterhauptsbein nach Durchstich der Haut gegen das Foramen occipitale kaudalwärts getastet, bis man durch dieses Foramen in den Duralsack eindringen konnte. Die Versuchstiere zeigten nach der Applikation von 50 γ Veratrin schlagartig zentrale Erscheinungen in Form von Kratzbewegungen, Gleichgewichtsstörungen, röchelndes Atmen und Ejakulation. Nach 4—5 min trat der Tod ein. In der Mehrzahl der Fälle konnte schon vor dem Eintritt des Todes schaumig seröse, blutige Flüssigkeit, die aus den Nasenlöchern floß, beobachtet werden. Die Sektion der Tiere in Auswertung der Lungengewichte ergab den Befund eines Lungenödems (Tab. 6). In Kontroll-

Tabelle 6. *Versuche mit Veratrin und Gynergen*

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht g	Veratrin γ	Gynergen mg/kg	eingegangen nach Injektion von Veratrin Zahl	eingegangen nach Injektion von Veratrin Min.	Lungengewicht je 100 g Tier	Lungenödem
16	323	50	—	16	4	1,7	+
13	283	50	5	13	4	1,0	—

versuchen mit physiologischer Kochsalzlösung, ebenfalls suboccipital nach beschriebener Technik in der gleichen Menge wie das Veratrin injiziert, reagierten die Versuchstiere nur mit leichten Gleichgewichtsstörungen ohne nennenswerte Störungen des Gesundheitszustandes. Durch Vorbehandlung mit Gynergen (5 mg/kg) gingen die Versuchstiere nach der gleichen Zeit wie die nicht mit Gynergen behandelten Tiere ein. Der Befund des Lungenödems war jedoch nicht zu erheben.

5. Versuche mit Pikrotoxin und Gynergen (Tab. 7).

Pikrotoxin wurde in einer Dosis von 4 bis 5 mg/kg Tier i. v. gegeben. Bei dieser Dosis gingen alle Versuchstiere ein und zeigten ein Lungenödem. Nach der üblichen Vorbehandlung mit Gynergen zeigte sich nur eine geringfügige Hyperämie der Lungen.

Tabelle 7. *Versuche mit Pikrotoxin und Gynergen.*

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht g	Pharmakon mg/kg	Gynergen mg/kg	eingegangen nach Injektion von Pikrotoxin: Zahl	eingegangen nach Injektion von Pikrotoxin: Min.	getötet nach Injektion von Pikrotoxin: Zahl	getötet nach Injektion von Pikrotoxin: Min.	Lungengewicht je 100 g Tier	Lungenödem	Zahl
6	216	4—5	—	6	12—30	—	-	1,2	+	5
2	200	4—5	5	2	20—29	—	-	0,85	—	2

6. Versuche mit dem Lungenödem nach doppelseitiger Vagotomie und Gynergen.

Die doppelseitige Vagotomie wurde an Ratten in Äthernarkose durchgeführt. Vor dieser operativen Maßnahme erfolgte bei einer Anzahl von Tieren aus einer abgebundenen Jugularis die Blutabnahme für die Zuckerbestimmung. Bei diesen Tieren wurde nach Tötung bzw. nach Eingehen erneut der Blutzucker bestimmt, um zu sehen, ob bei doppelseitiger Vagotomie die Höhe des Blutzuckers sich verändert. Im Zeitraum von 1 Std bis 6 Std nach der Operation wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, sofort seziert und die Lungendaten bestimmt. Alle Tiere wiesen nach der Vagotomie eine erschwerte Atmung auf, die Atemfrequenz sank bedeutend herab. 15 -30 min nach dem Erwachen aus der Narkose ließ die Atemnot mäßig nach. Sehr bald nach der Operation zeigte sich eine ausgeprägte, besonders an der Zunge der Versuchstiere sichtbare Zyanose.

Von den 13 operierten Tieren mit einem durchschnittlichen Gewicht von 208 g zeigten alle ein deutliches Lungenödem. Die durchschnittlichen Lungengewichte bezogen auf 100 g Tier betrugen 1,43 g (Tab. 8).

Tabelle 8. *Versuche bei Vagotomie ohne und mit Gynergen.*

Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht g	Vagotomie	Gynergen mg/kg	getötet nach Op. Std	Lungengewicht 100 g Tier	Lungenödem	Zahl
13	208	+	—	1½—7½	1,43	+	13
8	229,4	+	5		1,05	+	8
9	215,9	+	5		0,74	—	9

Bei 17 Ratten wurde die Vagotomie nach vorheriger i. m. Injektion von 5 mg/kg Tier Gynergen durchgeführt. 8 Tiere zeigten in diesem Versuch noch ein mäßig ausgebildetes Lungenödem. Bei 9 Tieren dieser Versuchsserie war nicht mehr der Befund des Lungenödems zu erheben.

Bei den nur vagotomierten Tieren stieg in einer Anzahl der Fälle der Nüchternblutzucker an, während nach der Vorbehandlung

mit Gynergen und anschließender Vagotomie ein Anstieg des Blutzuckers nie beobachtet wurde. Meistens lag der Blutzuckerwert bei Tötung der Tiere unter dem Nüchternblutzuckerwert.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Legt man sich die Frage vor, welche patho-physiologischen Faktoren bei der Entstehung des Lungenödems mitbeteiligt sein können, so denkt man zunächst an eine toxische Schädigung des Herzens und des Kreislaufes, sowie an eine Funktionsänderung in der Lunge selbst unter der Adrenalinwirkung.

Bei toxischer Adrenalinwirkung neigt das Herz zu heterotoper Reizbildung. Die Folge hiervon können Kammerflimmern und sekundärer Herztod sein (Eichholtz[13]). Verheerend wirkt sich die Dissoziation vom re. und li. Ventrikel auf den allgemeinen Kreislauf aus. Ein völliges Erlahmen der Herztätigkeit ist die Folge. Hinzu kommt noch die bedrohliche Blutdrucksteigerung (Werte bis zu 300—350 mm Hg). So wird das primär toxisch geschädigte Herz noch zusätzlich von der Peripherie her belastet. Diese Situation wird im Sinne der Herzinsuffizienz in einer maximalen Stauung im kleinen Kreislauf zum Ausdruck kommen.

Schon im Jahre 1878 hat Welch[14] über die Frage der Beteiligung des geschädigten Herzens für die Entstehung eines Lungenödems diskutiert, um den Herz-Kreislauffaktor gegenüber anderen abzugrenzen. Experimentell entsteht bei Abklemmung der Aorta descendens und der großen Arterien ein Lungenödem. Der Grund für diese pathophysiologische Situation ist die durch diese experimentelle Maßnahme bedingte Rückflußstauung in den Lungen, d. h. in dem Lungengefäßsystem. Den gleichen Effekt des Lungenödems erzielt man durch Zerquetschung des li. Vorhofes oder der li. Kammer bis zum Zustand der Lähmung des li. Herzens, ebenso durch Abbinden der Lungenvenen. So bildet offenbar die Rückflußstauung in dem funktionellen Lungengefäßsystem eine der Voraussetzungen für den Austritt von Plasma durch die Lungenkapillaren und durch das Epithel der Lungenalveolen.

Nach solchen Ergebnissen zu urteilen, darf der Herz-Kreislauffaktor für die Bildung des Lungenödems nicht negiert werden, der sowohl für die toxische Adrenalinwirkung, als auch für die direkte Schädigung des Herzens zutrifft.

Neben diesen durch das Erlahmen der Herzkreislauffunktion mehr sekundär bedingten Voraussetzungen für die Entstehung des Lungenödems kommt dem Adrenalin auch eine primäre Wirkung auf die Lungengefäße und damit auf die Lungendurchblutung zu. Im Sinne der Notfallsfunktion darf man unter der Adrenalinwirkung eine Erweiterung der Bronchien und der funktionellen Lungengefäße erwarten, um die Bindung des atmosphärischen Sauerstoffs an das Blut möglichst intensiv zu gestalten (Hochrein)[15]. Der Durchfluß von Blut durch die Lungen wird durch die Lungengefäßerweiterung gefördert. Vorerst nimmt der Lungenarteriendruck mäßig ab. Hieran schließt sich eine Drucksteigerung in den Venae pulmonales und dann in der Arteria pulmonalis, die durch ein vermehrtes Minutenvolumen und dadurch besseren Zustrom von Blut zum Herzen und den Lungen bedingt ist.

Diese örtliche Wirkung des Adrenalins bzw. des Sympathikus im Sinne einer Dilatation auf die Lungengefäße ist experimentell gesichert. Nach den Untersuchungen von W. R. Hess[16] verengert der Sympathikus in den Lungen wohl die arteriellen Gefäßstämme, erweitert dagegen deren Verzweigungsgebiet, und nach Daly de Burgh[17] sind die dilatatorischen Effekte in der Lunge häufiger als die konstriktorischen. Von Voigt[18] wurde dieser Befund an der Froschlunge bestätigt.

Diese dilatatorischen Veränderungen der Lungenkapillaren, ausgelöst über den Sympathikus bzw. Adrenalin, bilden nun die wesentliche Voraussetzung für die Transsudation von Plasma aus dem Blut in die Alveolen, da die Permeabilität der Gefäße unter anderem auch von ihrer Weite abhängig ist. Der Sympathikus fördert somit den Austritt von Plasma aus dem Lungengefäßsystem.

Als Beweis für diese Annahme kann das Lungenödem nach doppelseitiger Vagotomie und dessen Verhinderung durch Sympathikolytika (Gynergen) angesehen werden. Durch die Vagotomie überwiegt der sympathische Einfluß in den Lungen. Schaltet man auch den sympathischen Einfluß auf die Lungen aus (Gynergen), so kann auch das Lungenödem nach Vagotomie verhindert werden (siehe Tab. 8). Dieses Phänomen ist besonders deutlich, wenn das Gynergen $^1/_2$ bis 1 Std und auch länger vor der Vagotomie appliziert wird.

Im gleichen Sinne der Änderung des Permeabilitätsgrades im Lungengefäßsystem durch den Sympathikus sprechen auch die experimentellen Untersuchungen von Kraus[19], Gates und Auer[20]. Die Vagotomie fördert nämlich die Bildung des Adrenalin-Lungenödems. Nach Infusion großer Kochsalzmengen tritt sofort nach Vagotomie ein Lungenödem auf. Diese über den Sympathikus zustande kommende Funktionsänderung im Sinne einer Permeabilitätsänderung in den Lungen muß besonders stark bei toxischer Dosierung des Adrenalins zum Ausdruck kommen.

Zusammenfassend darf man aus den Befunden des Lungenödems nach doppelseitiger Vagotomie und dessen Verhinderung durch Gynergen sagen, daß nervöse Impulse über den Vagus in den Zellen eine Stoffwechsellage induzieren, die eine normale Permeabilität garantiert. Mit Unterbrechung dieses Dauertonus kommt es zur Durchlässigkeit des Epithels, also zum Eiweißaustritt (Rummel und Driesen[3]). Diese Situation ist im Sinne der endophylaktisch-trophotropen Wirkung des Vagus zu deuten (W. R. Hess). Nach Weiser und Rienmüller[6] bewirkt die Vagotomie eine funktionelle Gewebsalteration, durch welche die Lunge ödembereit wird. Für dieses Ödem ist die Hyperämie in den Lungen nach Vagotomie die wesentliche Voraussetzung. Interessant ist nun weiterhin, daß unter dieser erhöhten Permeabilität Arzneistoffe wie z. B. Sulfonamide vermehrt in dem Lungengewebe angereichert werden können[6].

Wir wissen nun weiterhin, daß die autonomen Organe zentral von den vegetativen Zentren in ihren Funktionen gesteuert werden. So kann man sich die physiologisch sinnvollen und gleichgerichteten Funktionsänderungen der verschiedenen Erfolgsorgane im Sinne der Notfallsfunktion vorstellen.

Zur Klärung des sogenannten zentrogenen Faktors für die Entstehung des Lungenödems ergeben sich drei experimentelle Möglichkeiten. Man kann versuchen, durch operative Zerstörung des

Sympathikus (Splanchnikotomie, Sympathektomie, Durchtrennen des Halsmarkes) den zentralen Einfluß des Sympathikus auf das Erfolgsorgan, in unserem Falle auf die Lungen auszuschalten; weiterhin durch operative Zerstörung der Regionen im zentralen Nervensystem, in denen man den Sitz solcher übergeordneten vegetativen Zentren vermutet, den Verlauf des toxischen Lungenödems zu beeinflussen; und endlich auf vegetative Zentren Pharmaka z. B. Narkotika, Hypnotika usw. einwirken zu lassen, um dadurch den Grad des toxischen Lungenödems abzuschwächen. Die von uns angewandte pharmakologische Ausschaltung jeglichen sympathischen Einflusses durch Gynergen auf das Erfolgsorgan (Lunge) ist im Sinne der ersten Möglichkeit zu werten. Durch diese drei Maßnahmen kann das Adrenalin-Lungenödem teilweise verhindert werden[9 u. 10].

Da das Cardiazol, Veratrin und Pikrotoxin ein Lungenödem verursachen, interessiert die Frage, ob für diese Pharmaka die gleichen pathophysiologischen Voraussetzungen für die Entstehung des toxischen Lungenödems bestehen wie beim Adrenalin. Diese Frage kann nur beantwortet werden, wenn durch solche Mittel auch allgemeine sympathische Symptome auftreten, die auf eine Beziehung dieses sympathischen Symptomenkomplexes zum toxischen Lungenödem hinweisen. Sowohl beim Cardiazol als auch beim Veratrin kann man eine deutliche zentrale Sympathikuserregung beobachten (Jarisch[3 u. 4]), die zu einer Tachykardie, Blutdrucksteigerung, Hyperglykämie und zur Pilomotorenreaktion (Camp[21]) führt. Der Beweis für die Mitbeteiligung des sympathischen Systems für die Entstehung solcher toxischen Ödeme (Cardiazol, Veratrin und Pikrotoxin) wurde mit der Verhinderung des Ödems durch Vorbehandlung mit Gynergen erbracht. Das Veratrinlungenödem läßt sich auch mit Sicherheit durch Hydergin verhindern[30]. So bezeichnet u. a. Eichholtz[22] mit Recht das Cardiazol-Lungenödem als ein sympathisches. Es besteht in dem von uns angewandten Gynergentest eine Möglichkeit, diese Ödeme in ihrer Genese zu differenzieren, d. h. den Nachweis zu erbringen, ob die Auslösung über den Sympathikus zustande kommt oder nicht.

Die sympathikotrope Wirkung des Adrenalins und der Lungenödemerzeugenden Krampfmittel kann man am einfachsten in ihrer hyperglykämischen Reaktion studieren. Wenn eine solche hyperglykämische Reaktion in analoger Weise wie das toxische Lungenödom durch Gynergen verhindert werden kann, so ist auch hier der Beweis einer sympathischen Reaktion erbracht.

Böhm[23] hat nun einige Krampfgifte in ihrer Wirkung auf den Blutzucker und auf den Milchsäurespiegel untersucht. Cardiazol, Pikrotoxin rufen auch bei unterschwelligen Krampfdosen in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Fujii[24] eine augenblicklich einsetzende Hyperglykämie und einen konform ver-

laufenden Milchsäureanstieg hervor, die über eine Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren zustande kommen, denn nach Splanchnikotomie blieben diese Reaktionen aus. Dieser Befund konnte vom Hexeton, Kokain und Strychnin nicht erhoben werden. Das Kokain (RIECHERT[1]), das Hexeton und das Strychnin zeigen nun kaum oder kein Lungenödem.

Auch das Coramin haben wir im Vergleich zum Cardiazol in seiner Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel untersucht[26]. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von HAHN[27] tritt beim Coramin die hyperglykämische Reaktion viel später als beim Cardiazol ein und läßt sich auch nicht so eindeutig wie die Cardiazol-Hyperglykämie auslöschen. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß durch das Coramin andere Stellen des ZNS gegenüber dem Cardiazol beeinflußt werden. Es wirkt vorwiegend ähnlich dem Strychnin auf das Rückenmark, denn nach Dekapitation der Versuchstiere wird die Wirkungsdosis des Coramins nicht wesentlich herabgesetzt. Außerdem kommt dem Coramin eine reflektorische Wirkung über den Sinus caroticus zu. HAHN[28] konnte in einer neueren Arbeit am Melanophorentest des Frosches den Wirkungsunterschied zwischen Cardiazol und Coramin nachweisen. Cardiazol zeigt eindeutig sympathikotrope Wirkungsqualitäten, Coramin dagegen parasympathikotrope.

Das Auftreten von Lungenödem nach Abklemmen der Hirngefäße[8] findet vielleicht dadurch eine Erklärung, daß durch die dadurch bedingte Hypo- bzw. Anoxämie des Gehirns eine starke sympathikotrope Reaktion über vegetative Zentren ausgelöst wird, wie wir es bei Minderung des Partialdruckes des Sauerstoffes in der Einatmungsluft an Kaninchen nachweisen konnten[29]. Auch diese Art der hyperglykämischen Reaktion läßt sich nämlich durch Gynergen und DHE45 völlig auslöschen.

Zusammenfassung.

1. Die Entstehung des toxischen Adrenalin-Lungenödems wird wesentlich neben dem hämodynamischen Faktor durch die Wirkung des Adrenalins auf die Kapillaren im Sinne einer Dilatation bestimmt. Die Funktionsänderung der Lungenkapillaren durch Adrenalin bildet die Voraussetzung für die erhöhte Durchlässigkeit der Kapillaren für Blutplasma und wird zentral gesteuert.

2. Das Lungenödem nach Vagotomie sowie seine Aufhebung durch Gynergen bildet den Beweis für die permeabilitätsfördernde Wirkung des Sympathikus (Adrenalin) im Bereich des Lungengefäßsystems.

3. Das Cardiazol-, Veratrin- und Pikrotoxin-Lungenödem werden über den Sympathikus ausgelöst. Die Verhinderung durch Gynergen bietet hierfür den experimentellen Beweis.

4. Es besteht eine weitgehende Beziehung zwischen der Bildung des toxischen Lungenödems und der allgemeinen sympathikotropen Wirkung gemessen an der Hyperglykämie und dem Anstieg der Milchsäure im Blut beim Cardiazol, Pikrotoxin und Veratrin. Hieraus lassen sich das Cardiazol, Pikrotoxin und Veratrin vom Kokain, Hexeton, Coramin und Strychnin in ihrer Wirkung hinsichtlich des Auftretens eines toxischen Lungenödems differenzieren.

Das Cardiazol wurde uns freundlicherweise für unsere Versuche von der Knoll A.G., Ludwigshafen, das Coramin von der Ciba A.G., Wehr i. Baden, das Hexeton von der Firma Bayer, Leverkusen und das Gynergen von der Firma Sandoz, Nürnberg zur Verfügung gestellt, wofür wir unseren Dank aussprechen möchten.

Literatur.

[1] Riechert, W., u. H. Schmieder: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 122 (1941). — [2] Eichholtz, F., u. G. Hoppe: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **173**, 667 (1933). — [3] Jarisch, A., u. H. Thoma: Klin. Wschr. I 76 (1940). — [4] Jarisch, A., H. Richter u. H. Thoma: Klin. Wschr. II, 1440 (1939). — [5] Riechert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 620 (1941). — [6] Weiser, J., u. J. Rienmüller: Pflügers Arch. **233**, 786 (1933). — Rummel, W., u. Driesen: Dtsch. med. Wschr. **1949**, 965. — [7] Mayer, S.: Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. III. Abt. **77**, 262 (1878). — [8] Hering, H. E., K. Meurers, E. Koch u. H. Mies: Carotis sinus-Reflex 1927. — [9] Luisada, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **132**, 313 (1928). — [10] Glass, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **136**, 88 (1928). — [11] Zimmer, E.: Dissertation, Heidelberg 1944. — [12] Conette, A.: Dissertation, Heidelberg 1942. — [13] Eichholtz, F.: Lehrbuch der Pharmakologie. V. Aufl. S. 288. Berlin: Springer. — [14] Welch, W. H.: Virchows Arch. **12**, 375 (1878). — [15] Hochrein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **173**, 466 (1933). — [16] Hess, W. R.: Die Regulierung des Blutkreislaufes und der Atmung I. Leipzig 1931. — [17] De Burgh, Z., Daly: Physiologic. Rev. **13**, 149 (1933). — [18] Voigt, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **192**, 179 (1939). — [19] Kraus, F.: Z. exper. Path. u. Ther. **14**, 402 (1913). — [20] Gates, F. L., u. J. Auer: J. of Pharmacol. **6**, 608 (1914); **9**, 761 (1917). — [21] Camp, W. J. R.: J. of Pharmacol. **33**, 82 (1928). — [22] Eichholtz, F.: l. c. **13**, 307. — [23] Böhm, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **149**, 247 (1930). — [24] Fujii, J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **133**, 242 (1928). — [25] Riechert, W.: Noch nicht veröffentlichte Versuche. — [26] Riechert, W.: Noch nicht veröffentlichte Versuche. — [27] Hahn, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 572 (1948). — [28] Hahn, F., D. Müller u. W. Rummel: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 312 (1950). — [29] Funk, R., u. G. Klink: Diss. Pharm. Institut Heidelberg 1944. [30] Horst, H. G., H. Legler u. F. Wegener: Z. f. d. ges. exper. Med. **116**, 179 (1950).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 331—338 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien
(Vorstand: Prof. Dr. F. v. Brücke).

Vergleichende Untersuchung einiger antikonvulsiv wirksamer Glyzerinäther.

Von
K. H. Ginzel.

(Eingegangen am 10. August 1950).

Der von Berger und Bradley[1, 2] 1946 und 1947 untersuchte o-Kresyl-glyzerinäther „Myanesin" hat dank seiner selektiv muskelerschlaffenden Fähigkeit als Hilfsmittel bei der Narkose[3, 4, 5, 6] und bei der Behandlung von gewissen neurologischen Innervationsstörungen und Krampfzuständen, besonders bei Tetanus[7, 8, 9, 10, 11] zunehmende therapeutische Bedeutung gewonnen.

Durch seinen zentralen Angriffspunkt im System der Zwischenneurone[12, 13] unterscheidet er sich von den peripher wirksamen natürlichen und synthetischen Kurarestoffen. Multisynaptische Innervationsabläufe im Gehirn und Rückenmark erweisen sich gegenüber Myanesin um so empfindlicher, je mehr Zwischenneurone am Aufbau ihrer Bahnen beteiligt sind. Noch empfindlicher reagieren pathologisch gesteigerte Funktionen, welche bereits durch Dosen normalisiert werden können, die am normalen nervösen Geschehen keine Dämpfung hervorrufen. Dadurch ist es möglich, im subparalytischen Dosierungsbereich Wirkungen zu erzielen, die Hyperreflexie, Spastizität, Rigidität, Hyperkinesien, Tremor und tetanische Krampfzustände günstig beeinflussen; Atmung, Bewußtsein und Willkürmotorik werden dabei nicht beeinträchtigt.

Als Nebenwirkungen bei der klinischen — intravenösen — Anwendung des Myanesins wurden lokale Venenthrombosen und intravaskuläre Hämolyse beobachtet. Besonders die hämolysierende Eigenschaft des Myanesins hat in einigen Fällen zu Komplikationen geführt[14]; 3 Todesfälle im Anschluß an massive Hämoglobinurien wurden berichtet[15, 16].

Unter Hinweis auf diese Gefahren warnen einige Autoren[17] vor der Weiterbenützung des Präparates in der gegenwärtigen Form; gleichzeitig regen sie an, andere Körper der gleichen Stoffklasse mit geringerer hämolytischer Wirkung zu suchen.

Die Tatsache der antikonvulsiven Wirksamkeit in subparalytischen Dosen macht es notwendig, daß zur vergleichenden Bewertung von Substanzen vom Wirkungstyp des Myanesins nicht allein die lähmende Dosis, sondern die spezifische quantitative Wirksamkeit im subparalytischen Bereich herangezogen wird. Diese ist jeweils gegeben durch den Abstand einer in gewählter Versuchsanordnung antikonvulsiv wirksamen Substanzmenge von der mittleren paralytischen Dosis, und bestimmt die Güte eines derartigen Präparates. Darüber hinaus muß

untersucht werden, inwieweit die im subparalytischen Dosierungsbereich gefundenen Wirkungen mit Nebenwirkungen, insbesondere der hämolytischen, behaftet sind. Eine Gegenüberstellung der antikonvulsiven Fähigkeit gleich stark hämolysierender Dosen wird die Auffindung des geeignetsten der untersuchten Körper ermöglichen.

In der vorliegenden Arbeit wird Myanesin mit den folgenden 3 in Ortho-Stellung substituierten Phenyl-glyzerinäthern verglichen: o-Methoxy-phenyl-glyzerinäther „Myokain“ [18, 19, 20], o-Aethoxy-phenyl-glyzerinäther „M 8“ und o-Propoxy-phenyl-glyzerinäther „M 13“*. Alle genannten Substanzen sind in der von Berger [21] veröffentlichten Aufstellung von über 100 α-substituierten Glyzerinäthern enthalten.

An insgesamt 500 weißen Mäusen beiderlei Geschlechts im Gewichte von 16 bis 22 g wurde die antagonistische Wirkung der genannten Glyzerinäther gegen sicher tödliche Cardiazolmengen und 70% bzw. 100% tödliche Strychningaben ermittelt. Einerseits wurden Krampfgift und steigende Dosen des Relaxans gleichzeitig interperitoneal injiziert, andererseits wurden die Versuchskörper mit der Magensonde verabfolgt und 15 min später Cardiazol intraperitoneal gegeben. Bei der Feststellung der mittleren paralytischen Dosis (PD 50) nach intraperitonealer und peroraler Applikation diente die Aufhebung der Stellreflexe als Kriterium der Lähmung.

Die hämolytische Wirkung wurde mittels der von Butz modifizierten Kofler-Adamschen Methode[22] geprüft; dieselben Abänderungen, wie sie seinerzeit im Hämolyseansatz für Myokain[18] erforderlich waren, erwiesen sich auch hier als notwendig.

Die Wirkung der Substanzen auf den Blutdruck wurde an der Katze in Chloralosenarkose mit dem Quecksilbermanometer registriert.

Ergebnisse.

Tabelle 1 zeigt, daß steigende Mengen der gleichzeitig mit Cardiazol intraperitoneal injizierten Glyzerinäther eine zunehmende Schutzwirkung gegen die bei der Kontrollgruppe 97%ig tödlich ausgehenden Krämpfe gewähren. Die daraus errechenbaren Werte für die mittlere Schutzdosis (nach einer Beobachtungszeit von 90 min), das ist jene, die 50% der Tiere vor dem Krampftod rettet, (stehen am Fuß der Tabelle). Die einzelnen Werte sind nicht signifikant voneinander unterschieden. Der von Berger auf gleiche Weise ermittelte Wert der „mean protective dose“ für Myanesin konnte am vorliegenden Tiermaterial annäherungsweise reproduziert werden.

Tabelle 2 gibt die Schutzwirkung der 4 Relaxantien gegenüber tödlichen Cardiazol-Dosen nach peroraler Zufuhr wieder; die mittleren Schutzdosen konnten hier nur approximativ angegeben werden. Eine signifikante Differenz der einzelnen Werte besteht nicht.

* Für die Bereitstellung von Myokain danken wir der Firma Dr. Holzinger, für die Synthese der Versuchskörper M 8 und M 13 den Österreichischen Stickstoffwerken A.G.

Tabelle 1. *Schutzwirkung verschiedener Dosen von Myanesin, Myokain, M 8 und M 13 gegen tödliche Cardiazolkrämpfe. Überall 100 mg/kg Cardiazol. Die einzelnen Glyzeräther wurden gleichzeitig mit Cardiazol intraperitoneal injiziert; die Injektionsvolumina wurden mit 0,8 cm³/20 g Körpergewicht berechnet. Für jede Dosis wurden 10 weiße Mäuse, für den Cardiazol-Kontrollversuch 30 Tiere verwendet.*

		Zahl der gestorbenen Tiere Zeit nach der Injektion			
	mg/kg	10 min	30 min	60 min	90 min
Cardiazol allein . .	100	22/30	28/30	29/30	29/30
+ Myanesin . . .	80	1	2	6	6
	100	0	0	2	3
	125	0	1	3	4
+ Myokain	80	5	8	8	8
	100	3	3	4	4
	125	1	4	5	5
	156	2	2	2	2
+ M 8	80	4	7	7	7
	100	3	4	4	6
	125	1	2	2	2
+ M 13	51	3	6	7	8
	64	1	5	5	7
	80	0	1	2	4
	100	0	0	0	4
	125	0	0	0	3

Mittlere Schutzdosis für: Myanesin 93 ± 7* Myokain 110 ± 8 M 8 101 ± 5 M 13 81 ± 3

* Mittlere Fehler des Mittelwertes[28].

Tabelle 2. *Schutzwirkung verschiedener Dosen von Myanesin, Myokain, M 8 und M 13 gegen tödliche Cardiazolkrämpfe. Die einzelnen Glyzeräther wurden weißen Mäusen mit der Magensonde verabfolgt, worauf 15 min später 100 mg/kg Cardiazol intraperitoneal injiziert wurden. Für jede Dosis wurden 10 Tiere verwendet. Die Kontrollwerte für Cardiazol sind dieselben wie in Tab. 1.*

		Zahl der gestorbenen Tiere Zeit nach der Injektion			
	mg/kg	10 min	30 min	60 min	90 min
Myanesin	200	4	5	5	6
	250	0	0	0	1
Myokain	250	7	7	7	7
	300	1	2	2	2
M 8	250	5	6	7	7
	300	0	1	3	4
M 13	200	5	8	8	8
	250	1	1	4	6

Mittlere Schutzdosis für: Myanesin 210 Myokain 270 M 8 285 M 13 280

In Tabelle 3 werden die antagonistischen Beziehungen zwischen den Glyzerinäthern und Strychnin bei gleichzeitiger intraperitonealer Injektion aufgezeigt.

Tabelle 3. *Schutzwirkung verschiedener Dosen von Myanesin, Myokain, M 8 und M 13 gegen 100 bzw. 70%ig tödliche Strychninkrämpfe bei gleichzeitiger intraperitonealer Injektion (Injektionsvolumina 0,8 cm³/20 g). Überall 2 mg/kg Strychnin. Für jede Dosis wurden 10 weiße Mäuse, für die Strychnin-Kontrollversuche je 20 Tiere verwendet.*

		Zahl der gestorbenen Tiere Zeit nach der Injektion			
	mg/kg	10 min	30 min	60 min	90 min
Strychnin allein . .	2	20/20	20/20	20/20	20/20
+ Myanesin . . .	120	0	2	4	5
+ Myokain . . .	150	3	4	5	5
+ M 8	120	0	6	6	6
+ M 13	100	0	5	5	5
Strychnin allein . .	2	11/20	14/20	14/20	14/20
+ Myanesin . . .	100	0	2	2	2
	120	0	1	1	1
	150	0	0	0	0
+ Myokain . . .	100	0	2	2	2
	125	0	0	0	0
+ M 8	80	1	4	4	4
	100	0	0	0	0
+ M 13	70	1	4	5	5
	90	0	1	1	1
	120	0	0	0	0

Infolge der großen Streuung der individuellen Empfindlichkeit verschiedener Mäusestämme gegenüber Strychnin wurde mit der gleichen Strychnindosis bei der einen Kontrollgruppe eine 100%ige, bei der anderen jedoch nur eine 70%ige Mortalität festgestellt. Im letzterwähnten Fall war es daher notwendig, anstatt der mittleren Schutzdosis jene zu suchen, die alle Tiere vom Strychnintod bewahrt.

Während die Strychninkrämpfe deutlich gemildert wurden, blieb die klonische Komponente der Cardiazolkrämpfe auch bei den überlebenden Tieren in beinahe voller Stärke bestehen; am ausgeprägtesten war die Krampfanfälligkeit unter M 13, etwas gemäßigter schienen die Krämpfe bei M 8 und Myokain. Die tonischen Streckkrämpfe und der Opisthotonus, welche die Endphase des einzelnen Cardiazolkrampfanfalles darstellen und in entsprechender Stärke den Tod des Tieres verursachen, fehlten jedoch fast vollständig.

Die mittleren lähmenden Dosen nach intraperitonealer und peroraler Zufuhr werden in Tab. 4 den mittleren Schutzdosen (alle Werte aufgerundet) gegenübergestellt; das Ausmaß der subparalytischen Wirksamkeit der Stoffe ist aus der Größe der Quotienten der einzelnen Wertepaare ersichtlich.

Tabelle 4. *Mittlere paralytische Dosis intraperitoneal und peroral für Myanesin, Myokain, M 8 und M 13 (an je 40 weißen Mäusen ermittelt) im Vergleich zur mittleren Schutzdosis gegen tödliche Cardiazolkrämpfe.*

	Mittlere lähmende Dosis (PD 50)		Mittlere Schutzdosis gegen 100 mg/kg Cardiazol (SD 50)		PD 50 / SD 50	
	intraperit.	peroral	intraperit.	peroral	intraperit.	peroral
	mg/kg		mg/kg			
Myanesin . . .	180	375	95	210	1,9	1,8
Myokain . . .	295	690	110	270	2,7	2,6
M 8	235	490	100	285	2,4	1,8
M 13	145	355	80	280	1,8	1,3

Die Dauer der lähmenden Wirkung beträgt für die PD 50 intraperitoneal und peroral für Myanesin im Mittel 20 bzw. 35 min, für Myokain 60 bzw. 90 min, für M 8 40 bzw. 70 min und für M 13 15 bzw. 40 min. Die peroralen Dosenwerte liegen 2 bis 3mal höher als die zugehörigen intraperitonealen.

Die Frage einer Wirkung auf die neuromuskuläre Verbindung, die für Myanesin nachgewiesen, aber größenordnungsmäßig ohne therapeutische Bedeutung ist, wurde am isolierten Zwerchfell der Ratte nach Bülbring [23] bei rhythmischer maximaler Einzelreizung des N. phrenicus untersucht. Folgende Konzentrationen waren notwendig, um die Kontraktionshöhe auf 50% des Ausgangsniveaus zu senken: für Myanesin 1 : 2400, für Myokain 1 : 800, für M 8 1 : 920 und für M 13 1: 4000 (zum Vergleich für Tubocurarin 1 : 600000, für Bistrimethylammoniumdekandijodid 1 : 60.000). Die Konzentrationsangaben stellen Mittelwerte dar, die aus je 4 Versuchen pro Präparat durch graphische Interpolation gewonnen wurden. Diese neuromuskulär blockierende Wirkung der Glyzeriniäther kann durch Eserin nicht aufgehoben werden.

Alle 4 Glyzeriniäther wirken blutdrucksenkend. Das relative Ausmaß der depressorischen Wirksamkeit ist aus Tabelle 5 ersichtlich.

Die hämolytische Wirkung, in Hämolyse-Einheiten (H.E.) ausgedrückt, beträgt für Myanesin 100 H.E., für Myokain 25 H.E., für M 8 38 H.E. und M 13 105 H.E.

Der Zahlenwert der H.E. bezeichnet das Volumen einer Blutverdünnung 1:100 in cm^3, das durch 1 g Substanz innerhalb von 24 Std total hämolysiert wird[18]. Der Desoxycholsäurestandard, der dieser Methode zugrunde liegt, ist mit 4000 H.E. festgesetzt.

Tabelle 5 zeigt das Wirkungsspektrum der hier untersuchten Glyzeriniäther in Relativwerten bezogen auf Myokain. Auf die Berücksichtigung des Molekulargewichtes der Stoffe wurde verzichtet, da die Angaben in Gewichtsrelationen für die praktische Beurteilung der Wirkungsgrößen geeigneter sind. Auch betragen die Unterschiede zwischen den Molekulargewichten der Stoffe höchstens 25%.

Tabelle 5. *Relative Wirkungsstärken von Myanesin, Myokain, M 8 und M 13 bezogen auf Myokain.*

	Myanesin	Myokain	M 8	M 13
Depressorische Blutdruckwirkung . .	4,0	1,0	1,6	4,6
Neuromuskulär block. Wirkung . .	3,0	1,0	1,2	5,0
Hämolytische Wirkung	4,0	1,0	1,5	4,2
Antikonvulsive Wirkung:				
intraperitoneal	1,2	1,0	1,1	1,4
peroral	1,3	1,0	0,9	1,0
Wirkung gleich stark hämolysierender Dosen:				
Depressorische Blutdruckwirkung .	1,0	1,0	1,1	1,1
Neuromuskulär block. Wirkung . .	0,8	1,0	0,8	1,2
Antikonvulsive Wirkung:				
intraperitoneal	0,3	1,0	0,7	0,3
peroral	0,3	1,0	0,6	0,2
Hämolytische Wirkung gleich stark antikonvulsiver Dosen:				
intraperitoneal	3,3	1,0	1,4	3,0
peroral	3,1	1,0	1,7	4,2

Die hier unter dem Terminus „Antikonvulsive Wirksamkeit" erscheinenden Zahlenwerte bezeichnen die Relationen der mittleren Schutzwirkung der einzelnen Substanzen gegen tödliche Cardiazolkrämpfe. Ganz ähnliche Verhältniszahlen liegen auch für Strychnin vor, sind aber wegen der geringeren Anzahl von Versuchstieren nicht so gesichert.

Besprechung der Ergebnisse.

Wenngleich die statistische Methode zur Auswertung von Muskelrelaxantien mit zentralem Angriffspunkt an medikamentös erzeugten Krampfzuständen der Maus einen Modellversuch darstellt, so können die daraus gewonnenen Daten doch einen wichtigen Hinweis auf die Eigenschaften der geprüften Substanzen geben. Besonders die Beeinflußbarkeit der Strychninvergiftung liefert eine experimentelle Grundlage zur Entscheidung der Frage, inwieweit ein Präparat dieser Gruppe für die Therapie des Tetanus geeignet sein könnte. Dieser Analogieschluß wird gerechtfertigt durch die elektrophysiologischen Befunde an multisynaptischen Reflexabläufen im Rückenmark[13], die für Strychnin und Tetanustoxin eine Erregung des Zwischenneurons wahrscheinlich machen.

Die Ausschaltung der tonischen Endphase des Cardiazolkrampfanfalles bei unverminderten klonischen Krämpfen und die deutliche Milderung der Strychninkrämpfe im Bereich der mittleren Schutzdosen für beide Krampfgifte zeigt, daß die Glyzeriniäther vorwiegend antagonistisch gegen die tonischen Krämpfe zu wirken vermögen. Unna[24] hat dies bereits bei Myanesin beobachtet. Die günstigen Berichte über die therapeutische Beeinflussung des Tetanus[10, 11, 20] stehen damit im

Einklang. Hingegen scheint die Möglichkeit, klonische Krampfanfälle wirksam zu bekämpfen, geringer.

Der in Tabelle 5 angestellte Wirkungsvergleich gibt Myokain vor den anderen Glyzerinäthern den Vorrang. In gleich stark hämolysierenden Dosen besitzt Myokain eine mehr als 3mal so große antagonistische Fähigkeit gegen tödliche Cardiazolkrämpfe wie Myanesin und M 13. M 8 wirkt unter denselben Bedingungen um 30—40 % schwächer als Myokain. Die hämolysierende Wirkung von gleich stark antikonvulsiven Dosen ist bei Myanesin und M 13 über 3mal, bei M 8 ca. $1^1/_2$mal größer als bei Myokain. Der Quotient aus der mittleren lähmenden und der mittleren Schutzdosis, der ein Maß für den subparalytischen Grad der antikonvulsiven Wirksamkeit darstellt, zeigt für Myokain mit 2,7 den günstigsten Wert gegenüber 2,4 für M 8, 1,9 für Myanesin und 1,8 für M 13 (alle intraperitoneal); ähnliche Relationen liegen auch für die Quotienten aus den peroralen Dosen vor. Übereinstimmend damit konnte auch beobachtet werden, daß nach Zufuhr der mittleren Schutzdosen ohne Cardiazol bei Myokain kaum eine Beeinträchtigung im Betragen der Tiere auftrat, während die Mäuse nach Myanesin und M 13 eine deutliche Herabsetzung ihrer physiologischen Bewegungsunruhe zeigten. M 8 nahm auch hier eine Mittelstellung ein.

Vergleichen wir noch ohne Berücksichtigung der Hämolyse die Gewichtsmengen der Präparate, die zur Erzielung derselben antagonistischen Wirkung gegen tödliche Cardiazolkrämpfe erforderlich sind, so ergibt sich, daß Myokain um 16% höher als Myanesin, um 35 % höher als M 13, und um 10% höher als M 8 dosiert werden muß. Zur Gewährung eines vollkommenen Schutzes gegen 70%ig tödliche Strychninkrämpfe war die Dosierung für alle 4 Relaxantien etwa gleich hoch (Tab. 3).

Die Tatsache, daß auch nach peroraler Zufuhr der Präparate dieselbe Schutzwirkung wie nach intraperitonealer Injektion festgestellt werden konnte (die Dosen lagen etwa doppelt so hoch), liefert für die klinischen Versuche dieses bei chronischen neurologischen Krankheiten sehr erwünschten Applikationsweges[25] eine sichere Grundlage.

Der Wirkungsort der antikonvulsiven Wirkung von Myokain, M 8 und M 13 ist offenbar ebenso zentral wie von Myanesin. Die Kontraktionseinschränkung am isolierten Rattenzwerchfell trat erst bei Konzentrationen ein, die in therapeutischen Dosierungen in vivo niemals erreicht werden.

Es sei noch auf den merkwürdigen Befund hingewiesen, daß alle hier untersuchten Wirkungsqualitäten von Myanesin, Myokain, M 8 und M 13 (depressorische Blutdruckwirkung, neuromuskuläre, hämolytische und lähmende bzw. antikonvulsive Wirkung) trotz ihrer verschiedenen Angriffspunkte ähnliche Relationen zueinander oder zumindest dieselbe Reihenfolge der Wirkungsstärken aufweisen.

Zusammenfassung.

1. 4 α-substituierte Glyzerinäther (der o-Kresyl-glyzerinäther „Myanesin", der o-Methoxy-phenyl-glyzerinäther „Myokain" und 2 höhere Homologe des Myokains) wurden auf ihre blutdrucksenkende, neuromuskulär blockierende, hämolytische, zentral lähmende und antikonvulsive Wirkung hin untersucht.

2. Alle Präparate besitzen sowohl nach intraperitonealer als auch nach peroraler Zufuhr eine ausgeprägte Schutzwirkung gegenüber tödlichen Cardiazol- und Strychninkrämpfen an der weißen Maus. Die mittleren Schutzdosen liegen alle im subparalytischen Dosierungsbereich; bei Myokain ist der Abstand zwischen mittlerer Schutzdosis und mittlerer lähmender Dosis am größten.

3. Alle Substanzen zeigen eine hämolytische Nebenwirkung, die bei Myokain am geringsten ist. In gleich stark hämolysierenden Dosen aller Präparate wirkt Myokain am stärksten antikonvulsiv.

4. Der Angriffspunkt, der für Myanesin im System der Zwischenneurone nachgewiesen ist, dürfte auch bei Myokain, M 8 und M 13 zentral sein. Eine neuromuskulär blockierende Wirkung kommt erst in Konzentrationen zustande, die selbst in subletalen Dosen an der Endplatte noch nicht erreicht werden.

Literatur.

[1] Berger, F. M., u. W. Bradley: Brit. J. Pharmacol. **1**, 265 (1946). — [2] Berger, F. M., u. W. Bradley: Lancet I, 97 (1947). — [3] Mallinson, B.: Lancet I, 99 (1947). — [4] Musgrove, H.: Anaesthesia **3**, 168 (1948). — [5] Wilson, H. B., u. H. E. Gordon: Lancet I, 367 (1948). — [6] Biström, O., u. S. Viikari: Nord. Medicin **41**, 109 (1949). — [7] Hunter, A. R., u. J. M. Waterfall: Lancet I, 366 (1948). — [8] Edwards, P. M.: Anaesthesia **3**, 160 (1948). — [9] Schlesinger, E. B., A. L. Drew u. B. Wood: Amer. J. Med. **4**, 365 (1948). — [10] Belfrage, D. H.: Lancet I, 889 (1947). — [11] Torrens, J. A., P. M. Edwards u. W. W. Wood: Lancet II, 807 (1948). — [12] Henneman, E., A. Kaplan u. K. Unna: J. of Pharmacol. **97**, 331 (1949). — [13] Kaada, Birger R.: J. Neurophysiol. **13**, 89 (1950). — [14] Clendon, D. R., u. J. B. Penfold: Lancet II, 987 (1949). — [15] Hewer, T. F., u. R. F. Woolmer: Lancet II, 909 (1947); Lancet I, 117 (1948). — [16] Goodier, T. E., u. C. E. Goodhart: Lancet I, 183 (1949). — [17] Berger, F. M., u. L. Dale K. Vartan: Lancet I, 651 (1948); Lancet I, 613 (1948). — [18] Ginzel, K. H., H. Leupold-Löwenthal u. W. Weis: Wien. med. Wschr. **99**, 299 (1949). — [19] Ginzel, K. H., O. Mayrhofer u. F. Chott: Wien. klin. Wschr. **61**, 768 (1949). — [20] Wayand, E., u. K. H. Ginzel: Wien. med. Wschr. **99**, 420 (1949). — [21] Berger, F. M.: J. of Pharmacol. **93**, 470 (1948). — [22] Butz, W.: Pharmaceut. Acta Helv. **9**, Sept. 1945. — [23] Bülbring, E.: Brit. J. Pharmacol. **1**, 38 (1946). — [24] Unna, K., u. A. Kaplan: Fed. Proc. **8**, 341 (1949). — [25] Berger, F. M., R. P. Schwartz u. Rochester: J. Amer. med. Assoc. **137**, 772 (1948). — [26] Koller, S.: Graph. Tafeln. Th. Steinkopff 1943.

Dr. K. H. Ginzel, Wien IX/71, Währingerstr. 13 A.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 339—351 (1951).

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. V. Müller-Hess).

Der Nachweis von Polamidon und Dolantin im Urin und ihre Trennung von Morphin.

Von
Ernst Vidic.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. August 1950.)

Bei der großen Zahl der im hiesigen Institut laufend zur Durchführung kommenden Kontrolluntersuchungen von Rauschgiftsüchtigen und suchtverdächtigen Personen mußte größter Wert auf eine rasch und sicher durchführbare Bestimmung und einwandfreie Identifizierung von etwa im Urin vorhandenem Polamidon („Höchst 10820") gelegt werden. Dabei war insbesondere auch darauf zu achten, daß nicht etwa Morphin oder andere Opiate durch die Anwesenheit von Polamidon vorgetäuscht werden konnten. In erster Linie war es von Interesse, inwieweit der Morphinnachweis nach Deckert [1] gegebenenfalls durch Polamidon gestört wird. Das Deckertsche Verfahren ist infolge seiner verhältnismäßigen Einfachheit besonders dann geeignet, ja unentbehrlich, wenn man vor die Notwendigkeit gestellt ist, an einem Tage 15—20 Urinproben auf die Anwesenheit von Morphin zu untersuchen. In diesem Falle kann zumindest der negative Ausfall der Untersuchung als beweisend angesehen werden, während bei einem positiven Ausfall noch andere Methoden der Identifizierung (z. B. nach Panse [2] oder Autenrieth [3] sowie die bekannten Farben- und mikrochemischen Reaktionen) heranzuziehen sind.

In zweiter Linie war eine ebenfalls nicht zu zeitraubende und nicht zu große Urinmengen erfordernde Methode zur quantitativen Ermittlung des Polamidons und dessen Identifizierung im Urin, auch neben Morphin, erforderlich. Hier fiel die Wahl zunächst auf die von Cronheim und Ware [4] angegebene Methode, weil bei der an sich naheliegenden Trennung nach dem Stas-Otto-Gang doch mit einer Störung der wenig charakteristischen Farb- und Fällungsreaktionen des Polamidons durch Opiate oder Alkaloide gerechnet werden mußte.

Das Bestreben ging daher dahin, die Methode von Cronheim für den vorliegenden Zweck wenn möglich noch zu vereinfachen. Es handelt sich bei Kontrolluntersuchungen der Urine Rauschgiftsüchtiger nicht so sehr darum, noch die geringsten Spuren (unter 1 γ pro cm^3) zu erfassen, sondern mehr um die sichere Identifizierung der über 1 γ pro

cm³ liegenden Gehalte, wie sie etwa einer therapeutischen Dosis entsprechen. Bei der Bekämpfung von Abstinenzerscheinungen Süchtiger kommen erheblich höhere Polamidongehalte in Frage; in 10 cm³ Urin wurden u. a. 200 bis zu 800 γ Polamidon aufgefunden.

Für die in der vorliegenden Arbeit wiedergegebenen Untersuchungen (aus der Zeit von Januar bis Juni 1950) standen 1100 Urinproben zur Verfügung.

I. Trennung des Polamidons und Dolantins von Morphin nach Deckert.

A. Polamidon.

Nach Soehring und Frahm [5] wird die Bestimmung von Morphin im Harn nach der Methode von Deckert durch Polamidon nicht gestört.

Durch eigene Versuche sowohl mit reinen Morphin-Polamidon-Lösungen als auch mit Ausschüttelungen von Morphin und Polamidon enthaltenden Harnen wurde festgestellt, daß das Polamidon auch noch bei sehr geringen Gehalten durch die zugesetzte Ammoniummolybdatlösung ausgefällt und durch Filtration entfernt wird. Nach etwa 5 min ist in den meisten Fällen die Ausfällung des Polamidons restlos beendet. Wartet man nicht genügend lange, so entsteht im Filtrat wiederum eine Opaleszenz von Polamidon. Zum Unterschied von der Morphintrübung erscheint diese Opaleszenz sehr rasch. Bei höheren Polamidongehalten — über 100 bis 200 γ pro 10 cm³ Urin — wird man zweckmäßigerweise der Auflösung des Ausschüttelungsrückstandes noch einen zweiten Tropfen der Molybdatlösung zusetzen. Bei einiger Übung kann man aus der Intensität der entstehenden Opaleszenz den Polamidongehalt annähernd abschätzen und so entscheiden, ob ein weiterer Molybdatzusatz angebracht erscheint.

Die Deckertsche Methode wird zum Zwecke der Abtrennung des Polamidons und gleichzeitig als Vorprobe auf dieses am besten wie folgt durchgeführt:

Die filtrierte Ausschüttelung mit Äthylacetat wird in einem 100-cm³-Fraktionierkölbchen bis auf wenige cm³ abgedampft, der Inhalt des Kölbchens hierauf in ein kleines halbkugelförmiges Abdampfschälchen aus Glas (4 cm oberer ⌀) entleert und das Kölbchen gut mit Äthylacetat nachgespült. Nun wird auf dem Wasserbade abgedampft und der Rückstand in 0,25 cm³ Wasser und 1 Tropfen Salpetersäure 1,15 in Lösung gebracht. Hierauf setzt man 1 Tropfen der 10%igen Molybdatlösung hinzu und beobachtet mit einer Lupe — zweckmäßig gegen einen schwarzen Untergrund —, ob eine Opaleszenz entsteht. Ein vorher in der Flüssigkeit etwa vorhandener geringer flockiger Niederschlag wirkt nicht störend. Ist die Opaleszenz ziemlich intensiv, oder entsteht gleich eine weiße Fällung, setzt man noch 1 Tropfen Molybdatlösung hinzu. Bewirkte das Molybdat eine Fällung, so wartet man etwa 5—10 min, bis alles Polamidon in gröberen Flöckchen abgeschieden ist und filtriert in ein kleines Reagensglas. Das Filtrat muß klar sein und weiterhin einige Minuten klar bleiben. Nach dem Nachwaschen mit Wasser werden 2 Tropfen des Ammonvanadat-Reagens zugegeben. Eine innerhalb von 20—30 min allmählich auftretende, sehr feine, sich nicht wesentlich absetzende

Trübung kann mit einem hohen Grad an Wahrscheinlichkeit als von Morphin herrührend angesehen werden.

Bei 30 γ Polamidon in 10 cm³ Urin kann die mit Molybdat erhaltene Opaleszenz eben noch gut beobachtet werden.

Die systematische Untersuchung von Urinproben, welche abgestuft 20, 40, 60 und 80 γ Morphin neben 100, 200 bzw. 300 γ Polamidon enthielten, erbrachte den Nachweis, daß eine Störung der quantitativen Morphinbestimmung nicht erfolgt.

Nach Deckert gibt auch Chinin mit Molybdat eine Fällung. Tatsächlich entsteht eine Opaleszenz, welche langsam in einen feindispersen weißen Niederschlag übergeht. Doch ist das Chinin nicht so leicht wie Polamidon quantitativ fällbar. Bei mehr als 50 γ pro 10 cm³ Urin bleibt ein Teil des Chinins in Lösung und kann Morphin vortäuschen. Durch den in dieser Arbeit angegebenen Analysengang zur Identifizierung von Polamidon und Dolantin wird das Chinin jedoch leicht erkannt.

Die mit anderen Arzneistoffen durch den Molybdatzusatz entstehenden Fällungen können als bekannt vorausgesetzt werden.

B. Dolantin.

Dolantin steht in der Empfindlichkeit der Fällungsreaktion mit Molybdat etwas hinter dem Polamidon zurück. Außerdem machen sich beim Dolantin oft Verzögerungserscheinungen bemerkbar, welche eine sofortige oder rasche Fällung in feiner Verteilung, besonders bei niedrigen Konzentrationen verhindern, so daß sie leicht übersehen werden kann. Aus Urin extrahiertes Dolantin wird in kleiner Menge nur als feinflockiger, schwer sichtbarer Niederschlag gefällt, und zwar erst bei einem Gehalt von ca. 60 γ in 10 cm³ Urin. Außerdem wurde ermittelt, daß beim Erhitzen des Rückstandes aus dem Äthylacetatauszug auf dem Wasserbade eine merkbare Verflüchtigung der Dolantinbase eintritt. Eine Vortäuschung von Morphin durch Dolantin ist nicht in Betracht zu ziehen.

II. Bestimmung von Polamidon und Dolantin nach der modifizierten Methode von Cronheim und Ware.

A. Polamidon.

Bei der Urinkontrolle von suchtverdächtigen Personen wurde ursprünglich das Verfahren von Cronheim und Ware in einer größeren Zahl von Fällen angewandt. Als jedoch Superfiltrol nicht mehr zur Verfügung stand, wurden die Blindwerte für den Urin nach einem von der Pharmazeutischen Wissenschaftlichen Abteilung der Farbwerke Höchst ausgearbeiteten und uns entgegenkommenderweise übermittelten Verfahren festgestellt*.

* Für die zur Verfügung gestellten Höchster Präparate sowie die Literaturauszüge möchte ich auch an dieser Stelle Herrn Dr. Krahl, dem Leiter der Wissenschaftlichen Abteilung der Höchster Farbwerke in Berlin (Arzneimittelkontor) meinen besten Dank abstatten.

Danach werden 10 cm³ des Urins mit 1n-Natronlauge alkalisch gemacht und 6mal mit je 20 cm³ Äther extrahiert. Von dem mit 1 n-HCl genau neutralisierten Urin wird dann der Blindwert ermittelt. Die Lichtabsorption der durch Zerlegung des Polamidonkomplexes mit 0,05 n-Natronlauge erhaltenen Indikatorlösungen wurde mit dem lichtelektrischen Kolorimeter von Dr. B. LANGE gemessen, wobei die maßhaltigen 20-cm³-Küvetten dieser Firma benutzt wurden. Eine Vereinfachung ergab sich aus der Feststellung, daß bei einmaliger Ausschüttelung mit Benzol praktisch dieselben Absorptionswerte erhalten werden konnten wie bei der doppelten Extraktion.

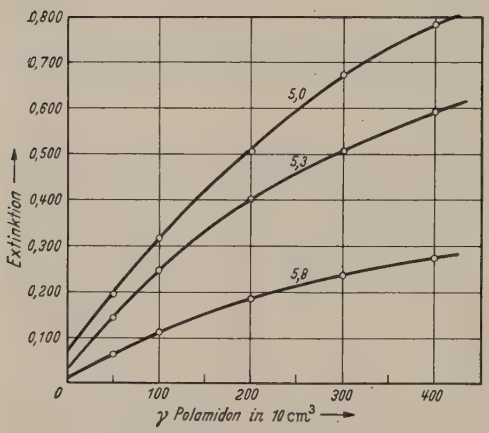


Abb. 1. Abhängigkeit der Extinktionswerte vom pH-Wert.

Aus der Eichkurve für die reinen Polamidonlösungen war zu ersehen, daß auch mit reinem Wasser an Stelle von Urin ein kleiner Absorptionswert erhalten wird. Bei der Untersuchung einer großen Zahl von normalen Urinen ergab sich, daß die Blindwerte, sofern der pH-Wert genau konstant gehalten wird, verhältnismäßig geringen Schwankungen unterliegen. Im allgemeinen waren sie um so höher, je konzentrierter die Urine waren. In Harnstofflösungen gleicher Dichte wurden identische, in ebensolchen Kochsalzlösungen etwas geringere Blindwerte erhalten (z. B. 6,5—7,5% gegen 5—6%). Bei der Untersuchung von Urinen starker Raucher zeigte es sich, daß die Blindwerte regelmäßig etwas höher lagen. Diese Tatsache konnte mit dem Nikotingehalt dieser Urine in Zusammenhang gebracht werden.

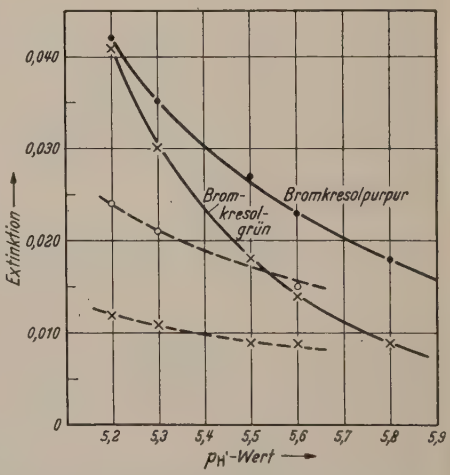


Abb. 2.
Einfluß des pH-Wertes auf die Blindwerte mit Urin (voll ausgezogen) und mit Wasser gestrichelt.

Ebenso wie der einem Polamidongehalt entsprechende Grad der erhaltenen Lichtabsorption wird auch der Blindwert des Urins sehr erheblich durch den während der Ausschüttelung mit Benzol herrschenden pH-Wert beeinflußt. Zur Sicherung einer in jedem Falle ausreichenden Pufferwirkung wurden Phosphatpuffer von dreifach höherer Konzentration verwendet, wodurch außerdem die Empfindlichkeit des Nachweises wesentlich gesteigert werden konnte. Beispiele für den starken Einfluß des pH-Wertes sind in der Abb. 1 dargestellt.

Systematische Versuche mit *Bromkresolgrün* führten — wie aus Abb. 2 ersichtlich ist — zu der Erkenntnis, daß mit diesem Indikator eine wesentliche Herabdrückung des Urin-Blindwertes möglich ist. Bei einem p_H von 5,6 (48 g $NaH_2PO_4 \cdot 2\,H_2O$ + 12 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ in 500 cm³ Lösung) wurden auch hinsichtlich der Empfindlichkeit der Reaktion mit Polamidon die günstigsten Ergebnisse erzielt.

In der Abb. 3 ist der Unterschied gegenüber der Bestimmung mit Bromkresolpurpur dargestellt, wobei der Blindwert bei Verwendung des Purpurs durch Erhöhung des p_H-Wertes auf 6,3 etwa in gleichem Maße herabgedrückt wurde. Die Verwendung von Bromkresolgrün hat außerdem den Vorteil, daß die Urinblindproben mit NaOH Ausschüttelungen ergeben, welche, mit dem Auge gesehen, praktisch farblos erscheinen (2,5 bis max. 3,5% Absorption gegenüber 2,0% bei reinem Wasser), während schon Polamidongehalte von 10 γ pro 10 cm³ Urin eine sehr deutliche Blaufärbung geben. Der Einfluß des Harnstoff- und Salzgehaltes im Urin wird bei der modifizierten Bestimmung erheblich zurückgedrängt.

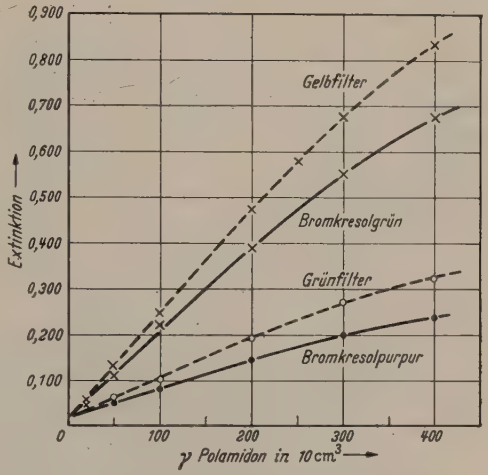


Abb. 3. Unterschied im Verlauf der Absorptionskurven, ausgehend vom gleichen Blindwert.

B. Dolantin.

Eine Überprüfung der Reaktionsfähigkeit des Dolantins mit den Sulfophthaleinen führte zu dem Ergebnis, daß sich dieses bei der Durchführung der Methode von Cronheim und Ware ebenso verhält wie Polamidon. Für das Dolantin gelten die gleichen Feststellungen wie sie für Polamidon angeführt wurden. Bei der Ermittlung der Eichkurve für Dolantin zeigte sich — mit Bromkresolgrün bei $p_H = 5{,}6$ — gegenüber dem Polamidon sogar noch eine höhere Empfindlichkeit.

III. Identifizierung des Polamidons und Dolantins.

1. Reaktionen anderer Arzneistoffe mit den Sulfophthaleinen.

Zunächst wurde festgestellt, daß Morphin auch bei Gehalten von über 100 γ pro 10 cm³ Urin auf die Polamidonbestimmung mit den Sulfophthaleinen keinerlei Einfluß ausübt. Ebenso verhalten sich auch

die anderen Opiate und Abkömmlinge, Codein, Dionin, Dilaudid, Narkotin und Papaverin. Eukodal und Dicodid hingegen bedingen, allerdings in verhältnismäßig sehr großer Menge (100—250 γ pro 10 cm³), bereits eine schwache Erhöhung des Blindwertes, und zwar von 3 bis 3,5% auf 6—8% Lichtabsorption in dem 20 cm³-Rohr. Man muß deshalb bei der Beurteilung niedriger Absorptionswerte, wenn gleichzeitig Verdacht auf Opiatmißbrauch vorliegt, vorsichtig sein und gleichzeitig auf Eukodal und Dicodid untersuchen.

Bei medizinalen Gaben dieser Opiate wird sich allerdings kaum ein Einfluß auf den Blindwert des Urins bemerkbar machen. Atropin und Skopolamin bis 100 γ pro 10 cm³ sowie Coffein bis 400 γ pro 10 cm³ üben keinen Einfluß aus. Der Einfluß von Nikotin wurde durch die Modifizierung der Methode praktisch ausgeschaltet.

Antipyrinderivate, Phenacetin, Acetanilid und Salicylsäure geben, soweit bis jetzt beobachtet werden konnte, nicht zu Störungen Anlaß.

Eine sehr starke Reaktion mit den Sulfophthaleinen wurde jedoch beim *Chinin* festgestellt. Die mit Chininsulfat durchgeführten Bestimmungen gaben Absorptionswerte, welche etwa denjenigen gleichkommen, die für Dolantin gefunden wurden. Auf diese Tatsache muß also unbedingt bei der Prüfung auf Polamidon und Dolantin entsprechend Rücksicht genommen werden.

Der Hauptsache nach besteht daher die Aufgabe darin, Polamidon, Dolantin und Chinin durch geeignete Identitätsreaktionen nachzuweisen, falls das modifizierte Verfahren von Cronheim und Ware einen eindeutig positiven Befund ergeben hat. Zweckmäßigerweise benutzt man für diesen Nachweis gleich die mit 0,05 n — NaOH ausgeschüttelten Benzolauszüge, welche die freie Base des Arzneistoffes enthalten. Dadurch wird auch gleichzeitig eine Trennung von den Opiaten, Alkaloiden u. a. Medikamenten erreicht, so daß sich die Identifizierungsreaktionen auf die mit den Sulfophthaleinen reagierenden Arzneistoffe beschränken können.

2. Gewinnung der Basen aus den Benzolauszügen.

Die Basen werden den Benzolauszügen durch zweimaliges Ausschütteln mit sehr verdünnter Salzsäure (zweimal 10 cm³ Wasser + je zwei Tropfen 2%iger Salzsäure) mit einer Ausbeute von 70% entzogen. Durch Abdampfen auf dem Wasserbade erhält man einen das Chlorhydrat enthaltenden Rückstand, welcher zur Identifizierung durch Mikroreaktionen herangezogen werden kann.

3. Unterscheidung von Dolantin, Polamidon und Chinin.

Die Versuche, eine Identifizierung durch Abdampfen des Benzols, Mikrosublimation des Rückstandes und Mikroschmelzpunktbestimmung vorzunehmen, führten nicht zu dem gewünschten Erfolg, da auf diese Weise weder vom Polamidon noch vom Dolantin gut ausgebildete Kristalle erhalten werden konnten.

Die Farbenreaktion mit dem MARQUIS-Reagens ist nicht empfindlich genug und tritt außerdem sowohl mit Dolantin als auch ähnlich mit Polamidon ein, bei dem letzteren allerdings in schwächerem Maße.

a) Fällung mit Pikrinsäure.

Eine sehr gute Unterscheidung ist mit Hilfe von Pikrinsäure wäßrige, gesättigte Lösung leicht möglich. Es wurden folgende Nachweisgrenzen ermittelt:

Dolantin	1 : 5000
Polamidon	1 : 10000
Chinin	1 : 70000

Bei Polamidon und Chinin treten oberhalb der Nachweisgrenze Opaleszenzen bzw. sehr feine Trübungen auf. Auch nach 48 Std langem Stehen zeigte sich bei den abgeschiedenen Teilchen unter dem Mikroskop keine Kristallbildung. Ein ganz anderes Bild ergibt sich beim Dolantin, welches in Konzentrationen oberhalb der Grenzkonzentration (200 γ/cm^3) allmählich, oder bei höheren Gehalten sofort charakteristische, aus

Abb. 4. Dolantin mit Pikrinsäure (120 ×).

gekrümmten, mehr oder weniger stark verzweigten und verästelten Nadeln bestehende strauchförmige Verbände gibt, welche in der Abb. 4 wiedergegeben sind.

b) Fällung mit Pikrolonsäure.

Die Kristallfällung von Dolantin mit Pikrolonsäurelösung ist in erheblichem Maße von der Konzentration der Dolantinlösung, dem Überschuß an Pikrolonsäure und der Reinheit der Lösung abhängig. Bei Anwendung einer 200 γ Dolantin auf 1 cm^3 enthaltenden Lösung

setzt man einem Tropfen Dolantinlösung einen halben Tropfen einer wäßrigen, gesättigten Pikrolonsäurelösung hinzu. Bei langsamer Kristallbildung entstehen in dem unbedeckten Flüssigkeitstropfen allmählich, vom Rande her, meist kugelförmige Büschel feiner Nadeln, welche oft auch stark verzweigt auftreten.

Polamidon- und Chininlösungen gleicher Konzentration geben mit Pikrolonsäure amorphe Trübungen.

c) Fällung mit Styphninsäure.

Dolantinlösung (200 γ pro cm^3) gibt mit wäßriger gesättigter Styphninsäurelösung nach ca. 5 min eine typische Kristallfällung, bestehend aus dichten Büscheln zugespitzter Nadeln in meist sternförmiger Anordnung.

In den wohl seltenen Fällen einer gleichzeitigen Anwesenheit von Polamidon oder auch Chinin neben Dolantin wird die Kristallfällung des Dolantins mit Pikrinsäure und Styphninsäure stark gestört. Prikolonsäure verhält sich in dieser Beziehung etwas günstiger.

d) Reaktionen mit Brom und Jod.

Die Reaktionen mit elementarem Brom und Jod bieten zuverlässige Unterscheidungsmöglichkeiten für Polamidon, Dolantin und Chinin, wenn sie stets unter genau definierten Bedingungen durchgeführt werden.

Reaktionen mit Brom: Aus Lösungen von Polamidon und Dolantin (200 γ pro cm^3) werden durch Zusatz von Bromwasser schwer lösliche Bromderivate gefällt. Die Dolantinverbindung ist jedoch in Kaliumbromidlösung wesentlich leichter löslich, wenn der Bromüberschuß nicht zu hoch gehalten wird.

Brom-Bromid-Reagens: Man vermischt ein Volumteil gesättigtes Bromwasser mit dem gleichen Volumteil einer 10%igen Kaliumbromidlösung.

1 Tropfen Dolantinlösung, 200 γ/cm^3 + 1 Tr. Reagens
= vollkommen *klare*, gelbe Lösung.
1 Tropfen Polamidonlösung, 200 γ/cm^3 + 1 Tr. Reagens
= deutliche hellgelbe, feindisperse Trübung
1 Tropfen Chininlösung, 200 γ/cm^3 + 1 Tr. Reagens
= klare Lösung, höchstens sehr schwache Trübung, welche aber durch Zusatz eines Körnchens KBr in Lösung geht.

Die Reaktionen werden am besten auf einem Hohlschliff-Objektträger auf schwarzem Untergrund vorgenommen.

Bei Abwesenheit von Chinin kann man eben noch ca. 50 γ Polamidon neben 150 γ Dolantin in 1 cm^3 an der auftretenden Opaleszenz erkennen.

Modifizierte Erythrochinin-Reaktion nach Abensour[6]. Ergibt sich bei den Vorproben der Verdacht auf Chinin, dann wird dieser Arzneistoff am besten wie

folgt nachgewiesen: Ein Tropfen der die Chlorhydrate enthaltenden Lösung (200 γ/cm³) wird in einem Mikro-Reagensgläschen mit 0,5 cm³ Wasser verdünnt, dazu ein Tropfen 10%ige Essigsäure und 0,15 cm³ Chloroform hinzugefügt. Nun setzt man einen Tropfen eines halbgesättigten Bromwassers zu, vermischt sogleich, läßt 10 sec reagieren und versetzt nunmehr mit 1 Tropfen 10%iger Kaliumferrozyanidlösung und gleich darauf mit 1 Tropfen 10%igem Ammoniak. Es wird nun gleich kurz und kräftig geschüttelt und das Chloroform absitzen gelassen. Bei Anwesenheit von Chinin färbt sich das Chloroform stark rotviolett. Auch bei einem Chiningehalt von 100 γ / pro cm³ ist die Färbung noch recht deutlich gegen das Grün der wäßrigen Lösung erkennbar und bei 50 γ pro cm³ tritt eine schwache, eben noch gut sichtbare Tönung auf.

Außer diesen Reaktionen kann für den Chininnachweis auch die empfindliche Thalleiochininprobe Anwendung finden, die durch Polamidon oder Dolantin nicht gestört wird.

Reaktionen mit Jod: Die Fällungen mit Jod sind noch wesentlich empfindlicher als diejenigen mit Brom. Die Löslichkeit wird nicht nur durch Kaliumjodid, sondern auch durch den p_H-Wert stark beeinflußt.

Jod-Reagens: $\frac{n}{20}$ Jodlösung mit 2 g KJ in 100 cm³, Konzentration des Arzneistoffes: 200 γ/cm³.

Tabelle 1.

Arzneistoff	1 Tropfen Lösung +5 „ Wasser +1 „ Jod-Reag.	+1 Tropfen Salzsäure 2% 2 min warten	+1 Tropfen KJ-Lösung 1%
Dolantin	braun stark *trüb*	fortschreitende Klärung	goldgelb vollkommen klar
Polamidon	braun in Durchsicht *klar*	fortschreitende Trübung deutlich trüb	Trübung bleibt schwache Aufhellung
Chinin	braun schwache Trübung	rasch starke braune Trübung	Trübung bleibt schwache Aufhellg.

Während also beim Dolantin zuerst eine deutliche Trübung auftritt, und beim weiteren Zusatz der Reagenzien zunächst eine starke Aufhellung und schließlich vollkommene Klärung eintritt, ist das Bild beim Polamidon gerade entgegengesetzt, so daß eine Unsicherheit kaum möglich erscheint. Die Reaktion mit Chinin nimmt eine Mittelstellung ein. Bei Abwesenheit von Chinin kann aus dem Reaktionsablauf u. U. auch auf das gleichzeitige Vorhandensein von Dolantin und Polamidon geschlossen werden.

e) *Kristallfällungsreaktionen mit Polamidon.*

Für den Mikronachweis eignet sich vornehmlich *Quecksilberchlorid*, welches mit dem aus den Benzolauszügen extrahierten Polamidon typische, gut ausgebildete Kristalle zu geben vermag.

Diese Mikroreaktion erleidet jedoch durch geringe Mengen von Verunreinigungen erhebliche Störungen und Verzögerungen. Die störenden Einflüsse werden erheblich gemindert, wenn die Kristallfällung in schwach salzsaurem Medium vorgenommen wird. Im Hinblick auf Kristallform und Bildungsgeschwindigkeit ist es am günstigsten, ein Reagens, bestehend aus 2 Vol.-Teilen 5%iger $HgCl_2$-Lösung und 1 Vol.-Teil 2%iger Salzsäure zu verwenden und in etwa halber Menge der Polamidonlösung (200 γ pro cm^3) auf dem Objektträger zuzusetzen. Das Gemisch wird dann ganz kurz über der Sparflamme eines Bunsenbrenners erwärmt, bis eine mäßige Konzentrationssteigerung eingetreten ist und unbedeckt

Abb. 5. Polamidon mit saurem Quecksilberchlorid (120×).

im Mikroskop beobachtet. Polamidon gibt, am Rande des Tropfens beginnend, charakteristische, meist stern- und garbenförmige Nadelbüschel (Abb. 5). Bei reinem Polamidon ist diese Reaktion sehr empfindlich; die Grenzkonzentration liegt bei 1:50000, so daß noch 0,5 γ Polamidon nachweisbar sind.

Saures Quecksilberbromid gibt eine ganz ähnliche Mikroreaktion.

Mit Dolantin und Chinin bilden sich unter den angegebenen Bedingungen keine Kristalle.

Tritt die Kristallfällung mit Polamidon bei gleichzeitigem positiven Verlauf der unter a) bis d) angegebenen Erkennungsreaktionen nicht ein, dann ist eine Reinigung des Benzolauszuges nach einem der üblichen Verfahren vorzunehmen und sodann die Fällung mit dem Quecksilberreagens zu wiederholen.

Mikroreaktionen des Polamidons mit Jodjodkalium- und Brombromkalium geben in konzentrierterer Lösung weniger typische Kristalle und sind zur Identifizierung von Polamidon aus Urin wenig geeignet.

4. Trennung der Analgetica von Chinin.

Für den Sonderfall einer gleichzeitigen Anwesenheit von erheblichen Mengen Chinin neben Dolantin und Polamidon ist, wie Versuche zeigten,

eine Abtrennung der Polamidon- und Dolantinbase durch Destillation im Wasserdampfstrom in Betracht zu ziehen.

IV. Ausführung der quantitativen Bestimmung von Polamidon und Dolantin im Urin und ihre Identifizierung.

In einem Scheidetrichter vermischt man 5 cm³ des konzentrierten Phosphatpuffers (vgl. oben S. 343) mit 5 cm³ des Bromkresolgrün-Indikators (0,1%) und 10 cm³ der mit verdünnter Phosphorsäure annähernd auf einen p_H-Wert von 5,6 eingestellten Urinprobe. Nach dem Hinzufügen von 50 cm³ reinem Benzol wird 2 min geschüttelt. Die wäßrige Flüssigkeit wird sodann abgelassen und die etwa gebildete Emulsion durch Zentrifugieren geschieden. Der Benzolauszug wird nun durch ein trockenes Faltenfilter (Durchmesser 12,5 mm) in einen zweiten Scheidetrichter abfiltriert und zweimal mit je 10 cm³ $^1/_{20}$ n Natronlauge ausgeschüttelt. Die vereinigten Natronlaugeextrakte werden mit $^1/_{20}$ n NaOH auf 25 cm³ aufgefüllt und die Farbtiefe bzw. die Lichtabsorption dieser Lösung gemessen.

Vor Durchführung der Analysen werden mit dem Kolorimeter die Eichkurven für reine Lösungen von Polamidon und auch Dolantin in destilliertem Wasser möglichst genau festgelegt. Hierbei wird ebenfalls der Blindwert für reines Wasser mitbestimmt. Die Blindwerte für normale Urine ohne körperfremde Bestandteile liegen bei der angegebenen Durchführungsart der Methode so niedrig, daß die sehr geringe Blaufärbung der Natronlauge für das Auge kaum noch zu erkennen ist. Die Extinktionswerte bewegen sich zwischen dem sehr kleinen Blindwert für reines Wasser und einer um 50—100% höher liegenden Absorption (z. B. zwischen 0,009—0,018). Im Mittel ist der Blindwert für normalen Urin um rund 75% höher als der Nullwert für Wasser und kann, ohne daß ein erheblicher Fehler entsteht, für die Berechnung des Polamidon- bzw. Dolantingehaltes herangezogen werden*. Die Eichkurve für Urin verläuft parallel zu der Kurve für die Lösungen in reinem Wasser. Die Fehler, die gegebenenfalls durch die Annahme des mittleren Blindwertes entstehen, sind so geringfügig, daß sie besonders bei Ermittlung etwas höherer Gehalte der Analgetica nicht ins Gewicht fallen.

Sobald die Eichkurven für das Kolorimeter festgelegt sind, läßt sich die Gehaltsbestimmung in einer Gesamtzeit von ca. 20 min durchführen. Da bereits ein Gehalt von 10 γ Polamidon oder Dolantin eine sehr deutliche, vom Blindwert mit Leichtigkeit unterscheidbare Blaufärbung gibt, ist die Empfindlichkeit vollkommen ausreichend und entspricht derjenigen des Deckertschen Morphinnachweises. Die Empfindlichkeit der Messungen kann durch Vorschaltung eines Gelbfilters im Kolorimeter gesteigert werden.

Identifizierung der den positiven Befund verursachenden Substanz.

Der von dem Indikator befreite Benzolauszug wird mit geglühtem Natriumsulfat gereinigt und zweimal mit je 10 cm³ Wasser, welches mit 2 Tropfen 2%iger Salzsäure angesäuert wurde, ausgeschüttelt. Der salzsaure Extrakt wird auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit sehr schwach salzsaurem Alkohol extrahiert. Das nach dem Verdampfen des Alkohols zurückbleibende Chlorhydrat löst man nun in soviel Wasser, daß eine Lösung entsteht, die, auf Dolantin berechnet, 200 γ pro 1 cm³ enthält. Bei Anwesenheit von Polamidon ist die Konzentration wenig höher, was jedoch ohne Bedeutung ist. Die Berechnung erfolgt unter Berücksichtigung einer Ausbeute von rund 70%.

* Es empfiehlt sich, von einer Reihe normaler Urine verschiedener Dichte die Blindwerte zu ermitteln, um den Mittelwert zu überprüfen.

Für die nun folgende Identifizierung werden wenigstens 20—30 γ des Chlorhydrates benötigt, welches in 0,1 bzw. 0,15 cm³ Wasser gelöst wird. Ist die bei einer Ausschüttelung mit Benzol erhaltene Substanzmenge geringer, dann muß eine zweite Ausschüttelung, eventuell auch mit etwas eingedampftem Harn, vorgenommen werden.

Man bringt nun zunächst ein kleines Tröpfchen der erhaltenen Lösung auf einen Objektträger, vermischt mit einem etwas kleineren Tröpfchen der Pikrinsäurelösung und beobachtet gegen einen schwarzen Untergrund. Dasselbe wiederholt man sodann mit der Pikrolonsäure und eventuell auch gleich mit Styphninsäure. Bleibt hierbei der Tropfen, insbesondere bei der Reaktion mit der Pikrolonsäure, vollkommen klar, dann kann die untersuchte Substanz bei der gewählten Konzentration höchstens 10—20% Chinin enthalten. Eine starke gelbliche Trübung bietet einen Hinweis auf Chinin. Eine schwächere Trübung oder Opaleszenz deutet auf Polamidon bzw. einen geringeren Chiningehalt.

Haben die angeführten Reaktionen den Verdacht auf Chinin ergeben, dann wird mit einem Tropfen der Lösung die in Abschnitt III/3d angeführte Erythrochininreaktion durchgeführt.

Bei Abwesenheit von Chinin ergibt die mit Pikrinsäure bzw. Pikrolonsäure erhaltene Opaleszenz einen Hinweis auf Polamidon. Als Vorprobe für die Unterscheidung von Dolantin und Polamidon wird sodann mit einem weiteren Tropfen der zu untersuchenden Lösung die in Abschnitt III/3d beschriebene Prüfung mit dem Brom-Bromidreagens vorgenommen. Anschließend prüft man noch mit dem Jod-Reagens.

Die vorstehend angeführten Reaktionen geben, im Verein mit der Prüfung nach Deckert, bereits ziemlich sichere Hinweise für das Vorhandensein von Polamidon oder auch Dolantin. Man schreitet nunmehr zur Identifizierung durch die Mikrokristallfällungen. Hierzu können auch schon die mit Pikrinsäure und Pikrolonsäure auf den Objektträgern ausgeführten Proben Verwendung finden, welche unter dem Mikroskop auf Kristallbildung untersucht werden. An diese Reaktionen schließt sich sodann noch die Prüfung mit dem Quecksilberchlorid- und Quecksilberbromid-Reagens, wodurch Polamidon identifiziert werden kann. In den Fällen, bei welchen es sich um Mißbrauch von Polamidon bzw. Dolantin handelt, wird schon bei einer Ausschüttelung von 10 cm³ Urin nach der mitgeteilten Methode durch Extraktion des Benzols eine voll ausreichende Menge der fraglichen Substanz erhalten, so daß die Unterscheidungs- und Identitätsreaktionen zur Sicherung der Diagnose ohne weiteres auch mehrfach wiederholt werden können.

Zusammenfassung.

1. Bei dem Morphinnachweis nach Deckert werden Polamidon und Dolantin durch den Zusatz der Ammoniummolybdatlösung in unlöslicher Form abgeschieden und so von Morphin getrennt. Die Morphinbestimmung im Harn wird durch die Anwesenheit auch verhältnismäßig hoher Gehalte an Polamidon und Dolantin nicht beeinträchtigt.

2. Der von Cronheim und Ware für Polamidon angegebene Nachweis mit Hilfe von Sulfophthaleinen kann auch für Dolantin in gleicher Weise angewendet werden.

3. Die Methode von Cronheim und Ware wurde einem näheren Studium unterzogen, als dessen Ergebnis ein wesentlich abgekürztes

Verfahren unter Verwendung von Bromkresolgrün entwickelt werden konnte.

4. Da auch Chinin, ähnlich wie Dolantin, mit den verwendeten Sulfophthaleinen reagiert und auch andere Arzneistoffe unter Umständen schwache Reaktionen geben können, werden Unterscheidungs- und Identitätsreaktionen für Polamidon und Dolantin angegeben, welche mit den in der Benzolausschüttelung enthaltenen Basen durchgeführt werden.

5. Die quantitative Bestimmung, sowie die nachfolgende Identifizierung, können nach der vorliegend beschriebenen Methode in den allermeisten Fällen bei nicht zu geringen Polamidon- bzw. Dolantingehalten in nur 10 cm^3 Urin in verhältnismäßig kurzer Zeit durchgeführt werden.

Literatur.

[1] Deckert, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **180**, 656—671 (1936). — [2] Panse, F.: Mschr. Psychiatr. **84**, 151 (1931/32) — Keeser, E. und J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **127**, 230 (1928). — [3] Autenrieth-Bauer: Die Auffindung der Gifte, S. 144 (1943). — Cronheim und Ware: J. of Pharmacol. **92**, 98 (1948). — Referat von Lindner, E.: Süddeutsche Apotheker-Ztg. **89**, 24 (1948). — [5] Soehring und Frahm: Klin. Wschr. **27**, 513—14 (1949). — [6] Abensour, J.: J. de Chim. et Pharm. (6) **26**, 25 (1907).

Anmerkung bei der Korrektur: Einige Zeit, nachdem diese Arbeit an den Verlag zur Veröffentlichung eingesandt worden war, erhielten wir Kenntnis von einer Veröffentlichung von C. Griebel, in welcher ähnliche Kristallbildungen mit Pikrolonsäure und Quecksilberchlorid beschrieben werden. Die Fällungsbedingungen weisen jedoch besonders im zweiten Falle z. T. wesentliche Unterschiede auf, da die Kristallbildung erst nach Abtrennung mit Hilfe des Sulfophthaleins und im HCl-sauren Milieu erfolgt.

Dipl.-Chemiker Dr. Ernst Vidic, Oberassistent und Leiter der chemischen Abteil., Berlin-Zehlendorf, Riemeisterstraße 59.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 352—355 (1951).

Aus der Neurochirurgischen Abteilung der Universität Freiburg i./Br.
(Direktor: Prof. Dr. T. Riechert).

Eine einfache Atmungspumpe.

Von
Hugo Ruf.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Juni 1950.)

Bei einer tierexperimentellen Arbeit war es notwendig, eine einfache und vor allem ganz billige Atmungsgpumpe (A.) zu entwickeln. Unter Hinweis auf die zusammenfassende Darstellung von Sulze[1] wird auf die Beschreibung einzelner Arbeitsprinzipien der A. verzichtet. Eine besondere Schwierigkeit im Schaltmechanismus macht die Steuerung des Ausatmungsventils, das bei der Einatmung geschlossen sein muß und meist über ein kompliziertes Gestänge durch ein Schieberventil bewerkstelligt wird. Das Ausatemventil wird in vorliegendem Modell über ein kleines Quecksilbermanometer elektrisch gesteuert. Da ein derartig einfaches Arbeitsprinzip in einer so kleinen und billigen Ausführung* der A. bisher nicht angewandt wurde, halten wir das Gerät für mitteilungswert.

Beschreibung der Atmungspumpe.

Der kleine Aufwand im Zusammenbau der A. ergibt sich durch die Verwendung eines Autoscheibenwischermotors für 6 V (Abb. 1, 1). In diesem ist bereits ein Untersetzungs- und Umkehrgetriebe eingebaut, das die fortlaufende Rotation des Motors in eine hin- und hergehende Drehung der herausstehenden Antriebsachse umwandelt. Der Drehwinkel beträgt nicht ganz 180° und wird in einer Sekunde einmal durchlaufen, so daß sich eine *Atmungsfrequenz von 30/min* ergibt. Auf der Drehachse ist mittels einer Buchse und Stellschraube ein geschlitzter Drehhebel (2) aufgesetzt, in dessen Schlitz radial verstellbar die Kolbenstange (3) einer kleinen Kolbenpumpe (4) drehbar befestigt ist. Der Zylinder der Pumpe ist zwischen den beiden gleichzeitig das Chassis bildenden Blechwinkeln drehbar gelagert (5). Bei der hin- und hergehenden Bewegung des Drehhebels kann der Pumpenzylinder nun nach oben ausweichen. In Abb. 1 ist die Mittelstellung gezeigt. Der Schlitz im Drehhebel gestattet, verschiedene Weglängen des Kolbens einzustellen und auf diese Weise die *pro Hub beförderte Luftmenge* zu regulieren, die bei dem vorliegenden Gerät *bis 60 cm*^{3} beträgt. Durch die Beweglichkeit des Zylinders wird gegenüber einer starren Befestigung das komplizierte Übertragungsgestänge zwischen Drehhebel und der parallel zu führenden Kolbenstange eingespart. Der Kolben ist wie bei einer Fahrradpumpe aus einer runden Wildlederscheibe zwischen zwei Metallscheiben aufgebaut, die in den Hubraum hinein umgelegt ist, so daß sie sich bei Überdruck im Hubraum von selbst dicht gegen die Zylinderwand anlegt.

* Nachbau kostet etwa 30 DM.

In ebenso einfacher Weise wird die *Ventilsteuerung der Luftbewegung* gelöst. Am Zylinder befinden sich 2 Ventile, das Einlaßventil (6) am Ende des Zylinders, und das Auslaßventil (7) oben auf dem Zylinderende mit dem abgehenden Gummischlauch. Als Ventile werden Fahrrad-Patentventile verwendet, die ohne Ventil-

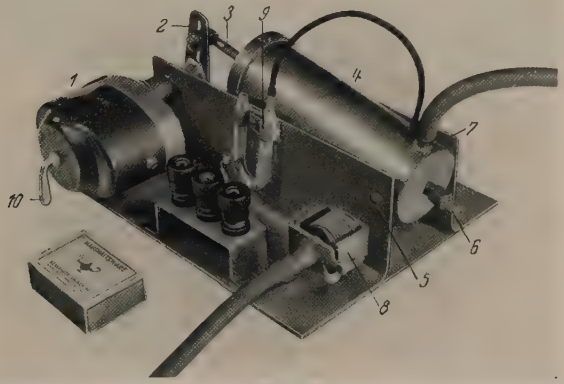


Abb. 1. Atmungspumpe im Größenvergleich mit einer Streichholzschachtel. 1. Autoscheibenwischermotor. 2. Drehhebel. 3. Kolbenstange. 4. Kolbenpumpe. 5. Drehlager. 6. Einlaßventil. 7. Auslaßventil. 8. Magnetisch gesteuertes Ventil. 9. Quecksilberschaltmanometer. 10. Hebelschalter.

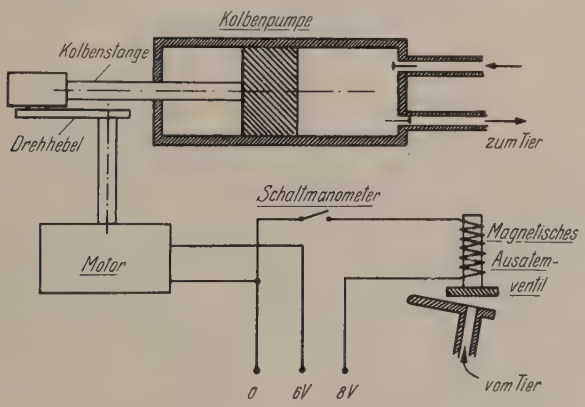


Abb. 2. Arbeitsweise des Quecksilber-Schaltmanometers.

schlauch arbeiten und schon auf geringe Druckunterschiede ansprechen. Sie sind im Zylinder eingelötet und der Ventileinsatz kann wie beim Fahrradreifen zur Reinigung oder Auswechslung herausgenommen werden. Das Auslaßventil ist umgekehrt aufgelötet, d. h. die am Einlaßventil sichtbare Überfallmutter, die den Ventileinsatz hält, ist am Zylinder festgelötet. Der sonst am Fahrradschlauch festsitzende Teil wird nach Absägen der Endscheibe in die feste Überfallmutter eingeschraubt.

Das Ausatemventil (8) muß während der Einatmungsphase geschlossen und in der Ausatmungsperiode, in der sich die Kolbenpumpe mit Frischluft füllt, geöffnet

sein. Diese Funktion des Ausatemventils erfordert eine Fremdsteuerung, die elektrisch betrieben wird, weil hierdurch der Aufbau wesentlich einfacher und billiger wird. Das magnetisch arbeitende Ausatemventil (8) besteht aus einem E-förmigen Magnetjoch aus weichem Eisen. Der runde Mittelzapfen trägt die Wicklung. Der Anker ist an dem linken Jochteil über eine Blattfeder angeschraubt, die den Anker vom Joch einige Millimeter abdrückt. In der Mitte des Ankers ist ein Schlauchrohr, ebenfalls aus weichem Eisen eingenietet. Der gegenüberliegende Mittelzapfen des Jochs ist etwas kürzer als die äußeren Jochteile und mit dünnem Gummi beklebt. Bei eingeschaltetem Strom zieht das magnetische Feld den Anker an, und der Jochzapfen schließt die Öffnung des Schlauchrohres dicht, während beim Ausschalten

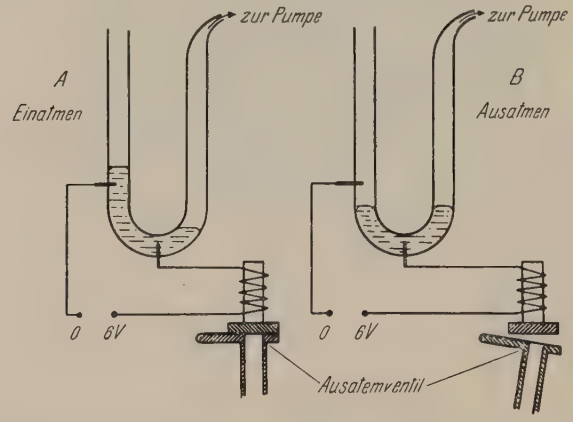


Abb. 3. Schematische Funktionsweise und Schaltung der Atmungspumpe.

die Blattfeder den Anker vom Joch abhebt und die Ausatmungsöffnung freigibt. Das Ein- und Ausschalten des Stromes besorgt ein kleines Quecksilberschaltmanometer (9), dessen Funktion aus der Abb. 2 hervorgeht. Das eine Ende des U-Rohres ist über einen Ventilschlauch durch ein kleines Röhrchen mit dem Pumpenzylinder verbunden. Schon bei geringem Überdruck im Zylinder zu Beginn des Einatmungsvorganges wird das Quecksilber im Manometer nach links emporgedrückt. Hierdurch werden die beiden eingeschmolzenen Kontakte verbunden, worauf das Ausatemventil anzieht und den Luftauslaß verschließt (Abb. 1, 9 u. Abb. 2, A). Umgekehrt wird bei geringem Unterdruck in der Pumpe während der Ansaugphase von Frischluft der Strom unterbrochen und somit die Ausatemöffnung freigegeben (Abb. 2, B).

Bei dem beschriebenen Gerät ist die Wicklung des Ausatemventils zu hochohmig ausgefallen, so daß zum sicheren Verschluß der Ausatemöffnung am Magneten nicht, wie beabsichtigt, 6 V, sondern 8 V erforderlich sind. Deshalb ist eine dritte Klemme angebracht (Abb. 1 und Abb. 3). Sollten aus irgendwelchen Gründen, z. B. Oxydation der Kontakte des Schaltmanometers, wenn kein Platin verwendet wird, Störungen am Ausatemventil während des Betriebes auftreten, so kann durch Anlegen einer erhöhten Spannung der magnetische Schaltmechanismus weiter betrieben werden. Als Stromquelle kann ein Autoakkumulator verwendet werden. Das Ein- und Ausschalten des Gerätes erfolgt mit dem im Scheibenwischermotor eingebauten Hebelschalter (Abb. 1, 10).

Zusammenfassung.

Es wird eine Atmungspumpe für Kleintiere beschrieben, die gegenüber den bekannten Ausführungen folgende Vorteile bietet:

1. Einfache Lösung des Schaltmechanismus des Ausatemventils, das über ein kleines Quecksilbermanometer elektrisch gesteuert wird.

2. Kleinheit des Gerätes. Es kann neben das Tier oder unter den Tisch gestellt werden und vermeidet somit eine räumliche Störung.

Literatur.

[1] Sulze, W.: Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. V. Teil 1, S. 459.

Doz. Dr. Hugo Ruf. Oberarzt der Neurochirurgischen Abteilung der Universiät Freiburg i./Br., Hauptstraße 5.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 356—365 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt/Main.

Über den Einfluß des Natriumthiosulfats auf die experimentelle akute Anilin- und Nitrobenzolvergiftung*.

Von

WALTHER LAUBENDER und PAUL SCHWAMB.

(Eingegangen am 21. August 1950.)

A. Einleitung.

Die Erkenntnis, daß Natriumthiosulfat, dem tierischen Körper einverleibt, eine entgiftende Wirkung hat, geht zurück auf die Studien über das Schicksal der Blausäure im Intermediärstoffwechsel.

Im Jahr 1894 fand LANG[1], daß HCN zu einem bestimmten Prozentsatz in Form von HSCN im Harn ausgeschieden wird. Er[2] fand weiter, daß dieser Vorgang sich durch Natriumthiosulfat-Darreichung steigern läßt. Unter Natriumthiosulfat-Darreichung steigt nach LANGS Versuchen an Kaninchen die tödliche Blausäuredosis um ein Vielfaches.

Im Anschluß an LANGS Versuche haben zahlreiche Autoren[3–9] die entgiftende Wirkung des $Na_2S_2O_3$ bei der Vergiftung mit Blausäure selbst und mit Blausäure in larvierter Form (Nitrilen) nachgewiesen.

Außer bei der Blausäurevergiftung wurde weiter eine — allerdings weniger sicher — entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei Schwermetallvergiftungen gefunden (Blei[10, 11], Quecksilber[12], Wismut[13] und Arsen[14–16]). Gegenüber diesen experimentell mehr oder weniger gut gestützten Befunden sind in der klinischen Literatur immer wieder Behauptungen aufgetaucht[13], daß Natriumthiosulfat auch bei zahlreichen anderen Vergiftungen entgiftend wirke. Dafür fehlen jedoch exakte experimentelle Grundlagen.

Unter der Fülle von Stoffen, denen gegenüber Natriumthiosulfat entgiftend wirken soll, beanspruchen ein besonderes Interesse die aromatischen Amido- und Nitroverbindungen. Experimentelle Angaben über eine entgiftende Wirkung des $Na_2S_2O_3$ bei Anilin- bzw. Nitrobenzolvergiftung existieren so gut wie nicht. Zwar gibt K. SAKUREI[17] an, daß bei der tödlichen Anilinvergiftung der Katze sich die Symptome durch Thiosulfat günstig beeinflussen ließen. Er bemerkt jedoch weiter, daß die behandelten Tiere (3 Versuche) dennoch gestorben seien.

Eine eventuelle entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Anilin- und Nitrobenzolvergiftung wäre deshalb von besonderem Interesse, weil diese beiden Stoffe in die Gruppe der methämoglobinbildenden Pharmaka gehören und weil $Na_2S_2O_3$ als starkes chemisches Reduktionsmittel die Eigenschaft haben könnte, die Reduktion etwa gebildeten Methämoglobins zu Hämoglobin zu erleichtern, bzw. die Methämoglobin-

* Herrn Geheimrat Professor Dr. ROST zum 80. Geburtstag gewidmet.

bildung völlig zu verhindern, zumal SAKURAI[18] im Reagensglas die reduzierende Wirkung des Natriumthiosulfats auf Methämoglobin nachgewiesen hat. Das Studium des Natriumthiosulfateinflusses auf die Anilin- und Nitrobenzolvergiftung ließ also gleichzeitig hoffen, dem Wirkungsmechanismus der Entgiftung durch das Natriumthiosulfat näherzukommen. Wir stellten uns daher zunächst die Aufgabe, den Einfluß des $Na_2S_2O_3$ auf die Giftwirkung von Anilin und Nitrobenzol, gemessen an der Änderung der prozentualen Sterblichkeit von Versuchstieren, zu bestimmen.

B. Methodik.

Als Versuchstiere wurden weiße Mäuse im Gewicht von 12—32 g verwandt. Zu einem Versuch wurde in der Regel eine Gruppe von 8 Tieren benutzt, von denen nur die Hälfte mit Natriumthiosulfat behandelt wurde, während die andere Hälfte der Tiere als Kontrolle für die unbeeinflußt verlaufende Vergiftung diente. Um Fehler durch die individuell verschiedene Empfindlichkeit der Tiere möglichst auszuschalten, wurden für einen Versuch nur Tiere des gleichen Stammes verwandt und die Tiere so verteilt, daß die Kontrolltiere im Durchschnitt etwa das gleiche Gewicht hatten wie die mit Natriumthiosulfat behandelten Tiere. Kranke Mäuse wurden von vornherein ausgeschieden.

Sowohl Anilin als auch Nitrobenzol wurden stets subkutan unter die Rückenhaut injiziert. Die Verabreichung von Anilin erfolgte in physiologischer Kochsalzlösung, wobei 2 cm^3 Anilin mit physiologischer Kochsalzlösung auf 100 cm^3 verdünnt wurden. Nitrobenzol wurde in öliger Lösung (oleum vegetabile), wobei 10 cm^3 Nitrobenzol mit Öl auf 100 cm^3 verdünnt wurden, appliziert. Diese vom üblichen abweichende Art der Lösungszubereitung geschah aus Gründen der Bequemlichkeit. Demgemäß sind auch in den Tabellen die Dosierungen für Anilin und Nitrobenzol nicht in Milligramm/Gramm, sondern in Kubikmillimeter/Gramm Maus angegeben.

Natriumthiosulfat wurde als sterile 10%ige Lösung angewandt, die uns in Form des „S-hydrils" von der Firma Laves, Hannover (10 cm^3-Ampullen), zur Verfügung gestellt wurde. Die stets angewandte Dosis betrug 0,2 cm^3 dieser Lösung, die teils intravenös, teils subkutan, teils intramuskulär zur Anwendung kam. Es wurde stets darauf geachtet, daß bei der subkutanen Anwendung S-hydril möglichst entfernt von der Applikationsstelle des Anilins oder Nitrobenzols injiziert wurde, z. B. tief unten an der Flanke.

Die Ungiftigkeit des Natriumthiosulfats wurde in Kontrollversuchen nachgeprüft. Bei diesen Versuchen erhielten die Tiere zum Teil größere Dosen von Natriumthiosulfat und in rascherem Tempo als die mit Anilin und Nitrobenzol vergifteten Tiere. Natriumthiosulfat allein führte nie zu irgendwelchen Erscheinungen.

Als Maßstab der Wirkung diente die prozentuale Sterblichkeit der Mäuse ohne bzw. mit $Na_2S_2O_3$-Behandlung. Die meisten Tiere starben innerhalb der ersten 16 Std nach erfolgter Vergiftung. Aber auch im Zeitraum zwischen 16 und 48 Std ereigneten sich noch Todesfälle. Vereinzelte Tiere starben auch noch im Zeitraum zwischen 2 und 7 Tagen nach der Intoxikation. Wenn Tiere später als eine Woche nach der Vergiftung starben, wurde kein sicherer Zusammenhang mehr mit der Vergiftung angenommen.

Geringfügigere Einflüsse der Natriumthiosulfat-Behandlung ließen sich an Veränderungen des Vergiftungsbildes feststellen, wobei insbesondere Zeitpunkt des Einsetzens und Intensität der Krämpfe, Auftreten der Schwanzreaktion, Fehlen der Schmerzreaktion, Fehlen des Umdrehreflexes, Veränderungen der

Atmung, Verhalten der Augen, Speichelsekretion und Cyanose am Schwanz beobachtet wurden.

Tiere wurden nur dann zum zweiten Male zum Versuch benutzt, wenn sie die Vergiftung mindestens 6 Wochen überlebt hatten und völlig gesund erschienen.

C. Versuchsergebnisse.

I. Anilin.

a) Mit *therapeutischer* Anwendung von Natriumthiosulfat (siehe Tab. 1).

Tabelle 1

Anilinversuche: O = ohne $Na_2S_2O_3$-Behandlung; M = mit $Na_2S_2O_3$-Behandlung. Für letztere folgende Applikationsweisen: a) *therapeutisch i.v.*: 1 Std *nach* der Anilininjektion 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier i.v.; b) *prophylaktisch i.v.*: 1 Std *vor* der Anilininjektion 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier i.v.; c) *prophylaktisch subkutan*: *vor* der Anilininjektion in 1stündigen Intervallen je 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung 1 mal, 2mal oder 3mal pro Tier subkutan; d) *prophylaktisch-therapeutisch kombiniert*: 1 Std *vor* der Anilininjektion 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier subkutan; *nach* der Anilininjektion 3mal je 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung in ½- bis 1stündigen Intervallen subkutan oder i.v.

Dosis mm³/g	Anzahl der Versuchstiere		Zahl der gestorbenen Tiere in % innerhalb 16 Std tot		zwischen 16 und 48 Std tot		zwischen 48 Std und 1 Woche tot		insgesamt tot	
	O	M	O	M	O	M	O	M	O	M
therapeutisch i.v.										
0,2	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
0,3	8	8	37,5	25,0	12,5	12,5	0	12,5	50,0	50,0
0,4	8	8	50,0	50,0	0	0	0	0	50,0	50,0
0,5	8	8	87,5	62,5	0	12,5	12,5	12,5	100,0	87,5
0,6	8	8	100,0	100,0	0	0	0	0	100,0	100,0
prophylaktisch i.v.										
0,4	4	4	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	75,0	75,0
0,5	4	4	75,0	50,0	0	25,0	25,0	0	100,0	75,0
0,6	4	4	75,0	75,0	25,0	25,0	0	0	100,0	100,0
0,7	4	4	100,0	100,0	0	0	0	0	100,0	100,0
prophylaktisch subkutan										
0,3	12	12	16,7	0	16,7	8,3	0	0	33,4	8,3
0,4	12	12	33,3	0	8,3	0	16,7	16,7	58,3	16,7
0,5	12	12	58,3	8,3	8,3	0	16,7	33,3	83,3	41,6
0,6	12	12	33,3	25,0	25,0	8,3	42,7	33,3	100,0	66,6
0,7	12	12	83,3	75,0	16,7	25,0	0	0	100,0	100,0
prophylaktisch therapeutisch kombiniert										
0,5	8	8	12,5	12,5	75,0	25,0	0	0	87,5	37,5
0,6	8	8	50,0	25,0	37,5	25,0	25,0	12,5	100,0	50,0
0,7	8	8	87,5	75,0	12,5	12,5	0	0	100,0	87,5

Gemessen an der prozentualen Sterblichkeit der Tiere im Zeitraum von 1 Woche ist der Einfluß des Natriumthiosulfats sehr gering. Nur bei einer Dosis (0,5 mm^3/g) zeigen die mit Thiosulfat behandelten Tiere eine geringere Sterblichkeit als die Kontrolltiere. Benutzt man aber als Maßstab der Wirkung die prozentuale Sterblichkeit innerhalb der ersten 16 Std, so ist der Einfluß der Natriumthiosulfat-Behandlung deutlicher. Sowohl bei der Dosis von 0,3 mm^3/g als auch bei der Dosis von 0,5 mm^3/g lag die Sterblichkeit der mit $Na_2S_2O_3$ behandelten Tiere niedriger. Das heißt, daß unter solchen Bedingungen die einmalige Natriumthiosulfat-Anwendung den Verlauf der Vergiftung zwar verzögert hat, daß sie aber auf sein endgültiges Ergebnis nur geringen Einfluß ausübte.

b) Mit *prophylaktischer* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Wurde die Prophylaxe in Form einer intravenösen Natriumthiosulfat-Applikation gehandhabt (siehe Tab. 1), so zeigte sich kein wesentlicher Einfluß auf den Vergiftungseffekt. Nur bei der Dosis von 0,5 mm^3/g Anilin ist die Sterblichkeit unter dem Einfluß des Natriumthiosulfats etwas geringer als bei den Kontrollen. Ein verzögernder Einfluß auf den Vergiftungsablauf ist nicht festzustellen.

Wurde die Prophylaxe in Form subkutaner Darreichung betrieben, so war der entgiftende Einfluß des Natriumthiosulfats sehr deutlich. Vergleicht man nämlich die mit Natriumthiosulfat behandelten Tiere mit ihren Kontrollen (siehe Tab. 1), so ergibt sich, daß — von der höchstangewandten Dosis abgesehen — sämtliche Anilindosen bei den mit Natriumthiosulfat vorbehandelten Tieren einen beträchtlich geringeren Sterblichkeits-Prozentsatz bewirkten. Auch bezüglich des Vergiftungsbildes zeigten sich charakteristische Unterschiede zwischen den mit Thiosulfat behandelten und den unbehandelten Tieren. Im Durchschnitt traten bei den mit $Na_2S_2O_3$ behandelten Tieren die Vergiftungssymptome später auf, waren von geringerer Intensität und hielten weniger lange an.

Auch die Anzahl der prophylaktisch gegebenen Natriumthiosulfat-Darreichungen hatte einen gewissen Einfluß auf die Stärke des entgiftenden Effektes. So führte zum Beispiel die 3 malige Natriumthiosulfatgabe bei den beiden niedrigsten Anilindosen von 0,3 bzw. 0,4 cm^3/g dazu, daß überhaupt keines der behandelten Tiere starb, während bei 2 maliger Darreichung nur bei der höheren Dosis 1 Todesfall und bei der 1 maligen Darreichung bei beiden Dosen je 1 Todesfall zu beobachten war. Die Unterschiede waren jedoch nicht so bedeutend, daß eine gesonderte Bewertung der Versuchsresultate für die verschieden häufige Darreichung notwendig schien.

c) Mit *kombinierter prophylaktisch-therapeutischer* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Bei der „kombinierten" Anwendung von Natriumthiosulfat *vor* und *nach* eingetretener Anilinvergiftung war der Effekt noch größer als bei der rein prophylaktischen Anwendung. Bei allen geprüften Anilindosen lag der Sterblichkeitsprozentsatz der mit $Na_2S_2O_3$ behandelten Tiere wesentlich tiefer als bei den unbehandelten (siehe Tab. 1). Die Beweiskraft dieser Versuchsergebnisse wird besonders deutlich, wenn man bedenkt, daß bei dieser Versuchsanordnung Anilindosen zur Anwendung kamen, die bei allen bis jetzt durchgeführten Versuchen zu einer Sterblichkeit von fast 100% geführt hatten. Natriumthiosulfat senkte diese Zahlen auf 50% und weniger. Der entgiftende Einfluß des Natriumthiosulfats drückte sich aber nicht nur im Absinken der prozentualen Mortalität sondern auch im Auftreten und in der Stärke des Vergiftungsbildes aus. Die mit Natriumthiosulfat behandelten Tiere wiesen zum Teil nur ganz leichte Vergiftungssymptome auf (positive Schwanzreaktion), während alle schwereren Symptome wie Seitenlage, Krämpfe, Analgesie und starke Zyanose ganz fehlen konnten.

II. Nitrobenzol.

a) Mit *therapeutischer* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Intravenöse Applikation des Natriumthiosulfats 1 Std *nach* der Nitrobenzolinjektion bewirkte in dem breiten Dosenbereich von 0,4—1,0 mm^3/g Nitrobenzol (siehe Tab. 2) fast bei allen Dosen eine meßbare Herabsetzung der Mortalität. Dies tritt noch deutlicher in Erscheinung, wenn man als Maßstab der Wirkung nicht die Gesamtmortalität sondern die Mortalität innerhalb der ersten 16 Std betrachtet. Natriumthiosulfat führt also in erster Linie dazu, daß die Nitrobenzolvergiftung protrahierter verläuft. Sie senkt aber auch die Gesamtsterblichkeit.

Die entgiftende Wirkung des Thiosulfats zeigte sich schließlich auch darin, daß die Vergiftung der nicht ad exitum gekommenen Tiere rascher reversibel wurde.

b) Mit *prophylaktischer* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Zur Prophylaxe wurde Natriumthiosulfat *vor* der Nitrobenzolinjektion 1-, 2- oder 3mal in ½- bzw. 1stündigen Intervallen intramuskulär injiziert, jedesmal bei einer Nitrobenzoldosis von 0,7 mm^3/g Tier. Die Zahl der Injektionen blieb auf den Erfolg der Behandlung fast ohne Einfluß. Dagegen hatte das gewählte Intervall einen gewissen Einfluß insofern, als bei den in 1stündigem Intervall gespritzten Tieren die Sterblichkeit etwas mehr absank als bei den in ½stündigem Intervall gespritzten (siehe Tab. 2). Auch hier lag die auf diese Weise zustande gekommene Sterblichkeit etwas tiefer als bei der „therapeutischen" Anwendung des Natriumthiosulfats.

In gleichartigen Versuchen mit subkutaner Applikation war ebenfalls die Zahl der Natriumthiosulfat-Verabreichungen ziemlich bedeutungslos; dagegen spielte das Intervall eine gewisse, aber nicht sehr bedeutende Rolle. Setzt man die gesamten mit Nitrobenzoldosen von 0,5—0,9 mm³/g vergifteten Tiere, die nicht mit $Na_2S_2O_3$ behandelt wurden, in Vergleich zu den mit Natriumthiosulfat behandelten Tieren, so zeigt sich wiederum ein beträchtliches Zurückgehen der Mortalität (siehe Tab. 2).

Auch im Verlauf des Vergiftungsbildes bewirkte die prophylaktische Anwendung des Natriumthiosulfats eine wesentliche Abschwächung sämtlicher zur Beobachtung kommender Symptome.

Tabelle 2.

Nitrobenzolversuche: O = ohne $Na_2S_2O_3$-Behandlung; M = mit $Na_2S_2O_3$-Behandlung. Für letztere folgende Applikationsweisen: a) *therapeutisch i.v.*: 1 Std *nach* der Nitrobenzolinjektion 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier i.v.; b) *prophylaktisch i.m.*: *vor* der Nitrobenzolinjektion 1-, 2- oder 3mal je 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier in ½- bzw. 1stündigen Intervallen i.m.; c) *prophylaktisch subkutan*: *vor* der Nitrobenzolinjektion 1-, bzw. 2-, bzw. 3mal je 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier in ½- oder 1stündigen Intervallen subkutan; d) *prophylaktisch-therapeutisch kombiniert*: *vor* der Nitrobenzolinjektion 3mal je 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier in 1stündigen Intervallen subkutan; *nach* der Nitrobenzolinjektion weiter 3mal 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier in 1stündigen Intervallen subkutan.

Dosis mm³/g	Anzahl der Versuchstiere		Zahl der gestorbenen Tiere in % innerhalb 16 Std tot		zwischen 16 und 48 Std tot		zwischen 48 Std und 1 Woche tot		insgesamt tot	
	O	M	O	M	O	M	O	M	O	M
therapeutisch i.v.										
0,4	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	8	8	50,0	12,5	25,0	25,0	0	0	75,0	37,5
0,6	4	4	100,0	0	0	75,0	0	0	100,0	75,0
0,7	4	4	75,0	50,0	25,0	25,0	0	0	100,0	75,0
0,8	4	4	100,0	25,0	0	50,0	0	0	100,0	75,0
0,9	4	4	75,0	50,0	25,0	50,0	0	0	100,0	100,0
1,0	4	4	100,0	75,0	0	25,0	0	0	100,0	100,0
prophylaktisch i.m.										
0,7	12	12	70,8	33,3	25,0	33,3	0	0	95,8	66,6
0,7	12	12	70,8	25,0	25,0	16,7	0	16,7	95,8	58,4
prophylaktisch subkutan										
0,5	24	24	41,8	0	45,7	8,3	0	0	87,5	8,3
0,7	24	24	62,5	16,6	37,5	37,5	0	4,2	100,0	58,3
0,9	24	24	95,8	54,0	4,2	16,6	0	0	100,0	70,6
prophylaktisch-therapeutisch kombiniert										
0,7	8	8	87,5	12,5	12,5	37,5	0	0	100,0	50,0
0,9	8	8	100,0	50,0	0	12,5	0	0	100,0	62,5

c) Mit *kombinierter prophylaktisch-therapeutischer* Anwendung von Natriumthiosulfat.

In dieser Versuchsreihe wurden nur Nitrobenzoldosen benutzt, die in allen vorhergegangenen Versuchen zu einer Mortalität von fast 100% geführt hatten, und die auch in dieser Versuchsserie zu einer Mortalität von 100% führten. Die, wie geschildert, *vor und nach* der Nitrobenzolinjektion mit Natriumthiosulfat behandelten Tiere wiesen Mortalitäten von 50 bzw. 62,5% auf und lagen damit am tiefsten von allen Versuchsanordnungen. Nimmt man nicht die Gesamtmortalität als Maßstab, sondern die Mortalität der ersten 16 Std nach der Vergiftung, so sinken die Prozentzahlen noch weiter ab, d. h., Natriumthiosulfat führt unter solchen Bedingungen nicht nur zu einer starken Herabsetzung der Gesamtmortalität sondern auch zu einem wesentlich protrahierteren Verlauf der Vergiftung (siehe Tab. 2). Es ist verständlich, daß gerade bei dieser Versuchsanordnung der Unterschied im Ablauf der Vergiftungsbilder besonders deutlich wurde. Die mit Natriumthiosulfat behandelten Tiere zeigten viel später Vergiftungssymptome; diese waren fast nie von der gleichen Stärke und klangen auch, soweit die Tiere überlebten, rascher wieder ab als bei den Kontrolltieren.

D. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Vergleicht man die durch Natriumthiosulfat-Behandlung bei der Anilin- und Nitrobenzolvergiftung erzielten Resultate miteinander, so ergibt sich grundsätzlich dasselbe Resultat: Natriumthiosulfat wirkt sowohl bei der Anilinvergiftung als auch bei der Nitrobenzolvergiftung entgiftend. Allerdings hängt das Ausmaß der entgiftenden Wirkung im hohen Maße von der Applikationsweise des $Na_2S_2O_3$ ab. Erst *nach* der gesetzten Vergiftung — also gewissermaßen therapeutisch — gegebenes Natriumthiosulfat wirkt am schwächsten. Prophylaktisch gegebenes wirkt wesentlich stärker. Wendet man das Natriumthiosulfat kombiniert *vor und nach* der Vergiftung an, erhält man die besten Resultate.

Es liegt nahe, diese starke Abhängigkeit des Entgiftungseffektes von der Applikationsweise mit der Resorptions- und Eliminationsgeschwindigkeit des Natriumthiosulfats in Zusammenhang zu bringen.

Anscheinend verläßt bei der intravenösen Injektion das sehr gut harnfähige Natriumthiosulfat so rasch den Körper, daß seine nötige Schwellenkonzentration im Blut bzw. in den Geweben nicht lange genug aufrechterhalten wird. Bei der wesentlich langsameren Einstromgeschwindigkeit, wie sie bei der subkutanen Injektion gegeben ist, wird — zumindest über längere Zeit hin — eine bestimmte Konzentration im Blut und in den Geweben gewährleistet. Durch mehrfach wiederholte Injektionen und durch kombinierte prophylaktisch-therapeutische

Anwendung läßt sich anscheinend der Spiegel im Blut bzw. im Gewebe noch etwas weiter und für noch längere Zeit steigern.

Der Vergleich der entgiftenden Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Anilin- und Nitrobenzolvergiftung zeigt ferner, daß $Na_2S_2O_3$ bei der Nitrobenzolvergiftung anscheinend wirksamer ist als bei der Anilinvergiftung. Das drückt sich schon beim Vergleich der *nach* der Vergiftung — also therapeutisch — angewandten Natriumthiosulfat-Darreichung aus und kommt ebenso in dem Effekt der prophylaktischen Anwendung zum Ausdruck.

Als Grund hierfür kann wohl *nicht* der verschiedene zeitliche Wirkungsablauf beider Vergiftungsbilder angesehen werden. Da es nämlich offenbar schwierig ist, einen hinreichend hohen Natriumthiosulfatspiegel über genügend lange Zeit aufrechtzuerhalten, müßten die besten Resultate bei der relativ rasch ablaufenden Anilinvergiftung erzielt worden sein. In der Tat sind sie aber bei der wesentlich protrahierter verlaufenden Nitrobenzolvergiftung erreicht worden. Der Grund kann also wohl nur in dem besonderen Wirkungsmechanismus des Natriumthiosulfats liegen.

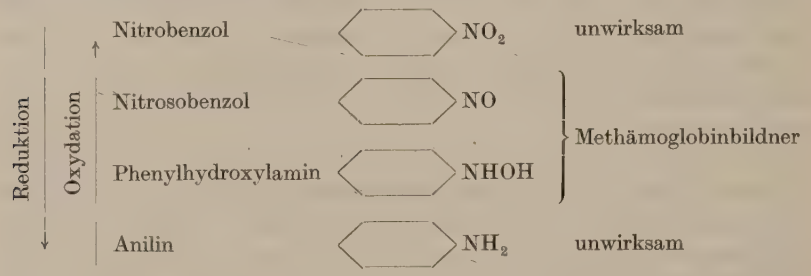
Um den Wirkungsmechanismus des Natriumthiosulfats zu erklären, wird man, entsprechend seiner chemischen Eigenschaft reduktiv zu wirken, in erster Linie an Reduktionsvorgänge denken, die das $Na_2S_2O_3$ im Organismus selbst hervorruft, oder die durch seine Anwesenheit verstärkt werden. Für eine solche Annahme sprechen die Beobachtungen über das Schicksal des Natriumthiosulfats im Organismus[19, 20]. Bei dieser reduktiven Wirkung müßte Natriumthiosulfat selbst oxydiert werden. Nach der Injektion größerer Mengen von $Na_2S_2O_3$ steigt nach den Versuchen von Nyiri[19] die Menge des in Form von Sulfat ausgeschiedenen Schwefels beträchtlich.

An welcher Stelle der Reaktionskette, die sich von dem einverleibten Anilin bzw. Nitrobenzol bis zum vergiftenden Endeffekt spannt, die Reduktionswirkung des Natriumthiosulfats ansetzt, ist auf Grund der hier mitgeteilten Versuchsergebnisse schwer zu entscheiden.

Da sowohl Anilin als auch Nitrobenzol methämoglobinbildende Gifte sind, und da Natriumthiosulfat in beiden Fällen entgiftend wirkt, wäre die einfachste Annahme die, daß das $Na_2S_2O_3$ im Sinne einer Rückbildung des Methämoglobins zu Hämoglobin wirksam ist. Mit dieser Annahme stehen im Einklang die Befunde von Sakurai[18], der fand, daß Natriumthiosulfat sogar in vitro zu einer Rückbildung des Methämoglobins befähigt ist. Außerdem lassen sich hiermit auch die im vorstehenden erhobenen Befunde vereinbaren, wonach die entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Nitrobenzolvergiftung stärker ist als bei der Anilinvergiftung. Es ist ja bekannt, daß Anilin ein sehr viel energischer methämoglobinbildendes Agens im Tierkörper ist als Nitrobenzol. Die in beiden Fällen in gleicher Weise einverleibten Natriumthiosulfatmengen könnten möglicherweise die bei der Nitrobenzolvergiftung entstehenden geringeren Methämoglobinmengen leichter wieder zu Hämoglobin reduzieren als die bei der Anilinvergiftung entstehenden größeren Mengen.

Eine zweite Möglichkeit des reduktiven Eingreifens in die Reaktionskette zwischen Pharmakon und Endeffekt liegt darin, daß $Na_2S_2O_3$ am Pharmakon selbst bzw. an seinen Umwandlungsprodukten im Intermediärstoffwechsel angreift.

Nach den Angaben der Literatur wirken weder Anilin[21] noch Nitrobenzol[22] an sich im Sinne einer Methämoglobinbildung, sondern erst die durch Umwandlung im Intermediärstoffwechsel daraus entstehenden Zwischenprodukte. Für diese Umwandlung im Intermediärstoffwechsel gilt nach LIPSCHITZ[23] und neuerdings JUNG[24] die folgende Reaktionskette:



Aus dem Anilin entsteht also durch Oxydation, aus dem Nitrobenzol durch Reduktion das eigentlich methämoglobinbildende Intermediärprodukt.

Die entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Anilinvergiftung wäre ohne weiteres dadurch zu erklären, daß Natriumthiosulfat auf Grund seiner Reduktionskraft die Bildung des toxischen oxydativen Umwandlungsproduktes verhindert oder die Menge des bereits gebildeten herabsetzt.

Weit schwieriger ist unter diesem Gesichtspunkt die entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Nitrobenzolvergiftung zu erklären. Man hätte hierbei eigentlich geradezu eine Giftung des Nitrobenzols erwarten müssen, da ja in diesem Falle das giftige Zwischenprodukt durch Reduktion entsteht und da Natriumthiosulfat diesen Prozeß hätte steigern bzw. die Menge des entstehenden Produktes hätte vermehren können. In der Tat hat aber das Natriumthiosulfat auch hierbei zu einer Entgiftung geführt. Das könnte nur so erklärt werden, daß Natriumthiosulfat eine supponierte reduktive Umwandlung des aus dem Nitrobenzol entstehenden eigentlichen Methämoglobinbildners stärker beeinflußt als die Reduktion des Nitrobenzols zu diesem. Die Tatsache, daß Natriumthiosulfat stärker entgiftend bei der Nitrobenzolvergiftung wirkt, als dies bei der Anilinvergiftung der Fall ist, müßte dann damit erklärt werden, daß der giftende reduktive Prozeß, der von Nitrobenzol zum toxischen Zwischenprodukt führt, grundsätzlich langsamer abläuft als der giftende oxydative Prozeß beim Anilin.

E. Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß von Natriumthiosulfat auf die experimentelle akute Anilin- und Nitrobenzolvergiftung, gemessen an der prozentualen Sterblichkeit von Mäusen mit und ohne Natriumthiosulfat, untersucht. Insgesamt wurden für die Anilinversuche 272, für die Nitrobenzolversuche 296 Mäuse verwandt. Die Tiere erhielten Anilindosen von 0,2—0,7 mm³/g Tier bzw. Nitrobenzoldosen von 0,4—1,0 mm³/g Tier. Natriumthiosulfat wurde jeweils bei der Hälfte der Tiere ein- oder mehrmals in Dosen von 0,2 cm³ 10%iger Lösung *nach* Giftapplikation (therapeutisch), *vor* Giftapplikation (prophylaktisch) oder sowohl *vor* als auch *nach* der Giftapplikation (prophylaktisch-therapeutisch kombiniert) verabreicht.

2. Bei der Anilinvergiftung führte die therapeutische Anwendung von Natriumthiosulfat nur zu einem geringen Absinken der prozentualen Mortalität. Die prophylaktische und noch mehr die prophylaktisch-therapeutisch kombinierte Anwendung führten zu einem gut meßbaren Sinken der prozentualen Sterblichkeit.

3. Bei Nitrobenzol führte bereits die therapeutische Anwendung des Natriumthiosulfats zu einem deutlichen Absinken der Sterblichkeit der Tiere. Prophylaktische und kombiniert prophylaktisch-therapeutische Anwendung ließen die Sterblichkeit beträchtlich — und zwar noch mehr als beim Anilin — sinken.

4. Es wird der Wirkungsmechanismus des entgiftenden Einflusses von Natriumthiosulfat auf beide Vergiftungen diskutiert. Als Erklärung für den Wirkungsmechanismus kommt vor allem die Reduktionswirkung des $Na_2S_2O_3$ in Frage, die entweder auf die Methämoglobinämie oder auf die im Intermediärstoffwechsel aus Anilin bzw. Nitrobenzol entstandenen toxischen Zwischenprodukte gerichtet ist.

Literatur.

[1] Lang, S.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **34**, 247 (1894). — [2] Lang, S.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **36**, 75 (1895). — [3] Heymans et Mascin: Arch. internat. Pharmacodynamie **3**, 359 (1897). — [4] Meurice: Arch. internat. Pharmacodynamie **7**, 11 (1900). — [5] Hunt: Arch. internat. Pharmacodynamie **12**, 447 (1904). — [6] Doutas, S.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **59**, 430 (1908). — [7] Milanesi, E.: Arch. internat. Pharmacodynamie **32**, H. 1/2, 156 (1926). — [8] Hug, E.: C. r. Soc. Biol. Paris **111**, 87 (1932). — [9] Wirth, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **179**, 558 (1935). — [10] Linguerri, R.: Atti. Soc. med.-chir. Padova ecc. **11**, 325 (1933). — [11] Linguerri, R.: Arch. internat. Pharmacodynamie **46**, 268 (1933). — [12] Melville, K. J., and M. Bruger: J. of Pharmacol. **37**, 1 (1929). — [13] Wendt, H.: Fortschritte der Therapie H. 2, 3, 4 1938. — [14] Young, A. G.: J. Labor. a. clin. Med. **41**, Nr. 3, 217 (1927). — [15] Young, A. G.: J. Labor. a. clin. Med. **13**, Nr. 7, 622 (1928). — [16] Kuroda, N.: Acta dermat. (Kioto) **13**, 289 (1929). — [17] Sakurai, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **109**, 214 (1925). — [18] Sakurai, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **107**, 287 (1925). — [19] Nyiri, W.: Biochem. Z. **141**, H. 1/3, 160 (1923). — [20] Meneghetti: Arch. di Sci. biol. **12**, 549 (1928). — [21] Rohde: Heffters Handbuch d. exper. Pharmakol. **1**, 1049 (1923). — [22] Ellinger, A.: Heffters Handbuch d. exper. Pharmakol. **1**, 1026 (1923). — [23] Lipschitz, W.: Erg. Physiol. **23**, Abt. 1, 1 (1924). — [24] Jung, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 208 (1940).

Prof. Dr. W. Laubender, Frankfurt a. M.,
Pharmakologisches Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 366—375 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt/Main.

Über den Einfluß des Natriumthiosulfats auf die experimentelle akute Methanol- und Arsensäurevergiftung*.

Von

WALTHER LAUBENDER und HERBERT RUFFERT.

(Eingegangen am 21. August 1950.)

A. Einleitung.

Die Sonderstellung, die die Methanolvergiftung gegenüber der Vergiftung mit höheren Gliedern der aliphatischen Alkoholreihe einnimmt, wurde bekanntlich sehr oft durch die allerdings nicht unwidersprochen gebliebene[1, 2, 3] Annahme erklärt, daß der Methylalkohol im Intermediärstoffwechsel zu dem giftigen Formaldehyd und später zu Ameisensäure und eventuell Kohlensäure oxydiert werde[4, 5, 6]. Auf dieser Vorstellung beruht auch ein Teil der für die Bekämpfung der Methylalkoholvergiftung vorgeschlagenen therapeutischen Maßnahmen. So sollte Ammoniak[7] den entstandenen Formaldehyd in das ungiftige Hexamethylentetramin umwandeln, die Alkalien[8, 9] raschere Ausscheidung der entstandenen Ameisensäure im Harn bewirken oder deren azidotische Wirkung herabsetzen.

Wenn in der Tat die besondere Giftwirkung des Methylalkohols auf seiner Oxydation im Intermediärstoffwechsel beruht, so war daran zu denken, daß energische Reduktionsmittel die Oxydation verhindern oder bremsen könnten und damit zu einer Entgiftung des Methanols führen würden.

LAUBENDER und SCHWAMB[10] haben in einer vorhergehenden Arbeit gezeigt, daß bei der experimentellen Anilin- und Nitrobenzolvergiftung Natriumthiosulfat entgiftend wirkt und haben angenommen, daß wahrscheinlich die entgiftende Wirkung auf der Reduktionskraft des Natriumthiosulfats beruht. Es war daher naheliegend, die Wirkung des Natriumthiosulfats auf den Ablauf der Methylalkoholvergiftung zu untersuchen.

Wenn tatsächlich eine eventuelle entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Methylalkoholvergiftung auf der Reduktionskraft des Natriumthiosulfats beruhte, so war weiter daran zu denken, daß das Zusammenwirken von Natriumthiosulfat mit solchen Stoffen, bei denen die Reduktion zu giftigeren Intermediärprodukten führt, im umgekehrten Sinn, das heißt giftend, wirken würde. Auf der Suche nach

* Herrn Geheimrat Professor Dr. ROST zum 80. Geburtstag gewidmet.

solchen Stoffen dachten wir an die Arsensäure, die nach den alten Versuchen von Ringer u. Mitarb.[11] und den späteren von Meneghetti[12] wesentlich weniger giftig ist als die arsenige Säure und die nach den gleichen Autoren nur in dem Maße giftig wirken soll, als sie im Intermediärstoffwechsel zur arsenigen Säure reduziert wird. Da später Binz[13] und Heffter[14] fanden, daß die Reduktion der Arsensäure durch Organsäfte wahrscheinlich auf der Anwesenheit von SH-Gruppen im Eiweißmolekül beruht, war es naheliegend, den Einfluß des Natriumthiosulfats auf die Arsensäurevergiftung des ganzen Tieres zu untersuchen. Eine eventuelle Steigerung der Giftigkeit der Arsensäure unter solchen Bedingungen könnte dann als weiterer Beweis dafür betrachtet werden, daß das Wesen der Natriumthiosulfatwirkung auf seiner Reduktionskraft beruht.

B. Methodik.

Das methodische Vorgehen war dasselbe wie in der vorhergehenden Arbeit von Laubender und Schwamb[10]. Als Versuchstiere wurden auch hier weiße Mäuse benutzt*.

Zu den Methanolversuchen wurde 98%iger Methylalkohol verwandt, welcher, um örtliche Nebenwirkungen zu vermeiden, mit Aqua dest. auf 50% verdünnt wurde. Die in der Tabelle angegebenen Dosierungen beziehen sich auf reinen Methylalkohol in Kubikmillimeter/Gramm Körpergewicht. Das Methanol wurde den Tieren mittels einer Schlundsonde verabreicht.

Zu den Arsensäureversuchen wurde das Natriumsalz der Arsensäure (Natrium arsenicicum $Na_2H\,As\,O_4 + 7\,H_2O$) in kristallisierter Form verwandt; für die niedrigen Dosen wurde hiervon eine 0,1%ige, für die höheren eine 1%ige Lösung mittels physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Bei den Kontrollversuchen mit arseniger Säure kam ihr Natriumsalz, das Natrium arsenicosum ($Na_2As_2O_4 + H_2O$), zur Anwendung. Die in den Tabellen angegebenen Dosierungen in Milligramm/Gramm beziehen sich auf die kristallwasserhaltigen Präparate. Arsensäure und arsenige Säure wurden stets subkutan injiziert.

C. Versuchsergebnisse.

I. Methanol.

a) Mit *therapeutischer* Anwendung von Natriumthiosulfat (siehe Tab. 1).

Bei der niedrigsten Dosis von 8 mm³ Methanol pro g Tier war diese Wirkung am deutlichsten. Bei den hohen Dosen von 12—14 mm³/g dagegen hatte Natriumthiosulfat keinen Einfluß auf die Gesamtmortalität mehr. Dennoch zeigte sich bei der höchstangewandten Dosis von 14 mm³/g insofern ein Einfluß des Natriumthiosulfats, als der Zeitpunkt des Todes hinausgezögert wurde.

Offenbar ist die Streuung der bei der Methylalkoholvergiftung erzielten Resultate eine sehr große. Nur so läßt sich erklären, daß die Dosis-Wirkungsbeziehung,

* Bezüglich aller weiteren Einzelheiten sei auf die beiden Dissertationen P. Schwamb, Inaugural-Dissertation Frankfurt/M. 1950 und H. Ruffert, Inaugural-Dissertation Frankfurt/M. 1950, verwiesen.

unabhängig davon, ob mit oder ohne Natriumthiosulfatbehandlung, eine starke Unstetigkeit aufweist.

b) Mit *prophylaktischer* Anwendung von Natriumthiosulfat (siehe Tab. 1).

Tabelle 1.

Methanolversuche: O = ohne $Na_2S_2O_3$-Behandlung; M = mit $Na_2S_2O_3$-Behandlung. Für letztere folgende Applikationsweisen: a) *therapeutisch i.v.*: ½ Std *nach* der Methanolverabreichung 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier i.v.; b) *prophylaktisch i.v.*: 1 Std vor der Methanolverabreichung 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier i.v.; c) *prophylaktisch subkutan*: *vor* der Methanolverabreichung in 1stündigen Intervallen je 0,2 cm³ $Na_2S_2O_3$-Lösung 1 mal oder 3mal pro Tier subkutan; d) *prophylaktisch-therapeutisch kombiniert*: 1 Std *vor* der Methanolverabreichung 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier subkutan; *nach* der Methanolverabreichung 3mal je 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung in ½ bis 1stündigen Intervallen subkutan oder i.v.

Dosis mm³/g	Anzahl der Versuchstiere		Zahl der gestorbenen Tiere in % innerhalb 16 Std tot		zwischen 16 und 48 Std tot		zwischen 48 Std und 1 Woche tot		insgesamt tot	
	O	M	O	M	O	M	O	M	O	M
					therapeutisch i.v.					
8	4	4	50,0	0	0	0	0	0	50,0	0
9	4	4	50,0	25,0	0	0	0	0	50,0	25,0
10	4	4	50,0	50,0	50,0	0	0	25,0	100,0	75,0
11	4	4	25,0	25,0	25,0	0	0	0	50,0	25,0
12	4	4	50,0	50,0	0	0	0	0	50,0	50,0
13	4	4	100,0	100,0	0	0	0	0	100,0	100,0
14	4	4	25,0	0	50,0	25,0	0	50,0	75,0	75,0
					prophylaktisch i.v.					
9	4	4	0	0	25,0	0	0	0	25,0	0
10	4	4	75,0	25,0	0	50,0	25,0	0	100,0	75,0
11	4	4	100,0	100,0	0	0	0	0	100,0	100,0
12	4	4	50,0	25,0	0	25,0	0	0	50,0	50,0
					prophylaktisch subkutan					
8	8	8	25,0	0	12,5	0	0	0	37,5	0
9	8	8	37,0	12,5	25,0	0	12,5	0	75,0	12,5
10	8	8	62,5	12,5	0	25,0	12,5	0	75,0	37,5
11	8	8	100,0	25,0	0	25,0	0	0	100,0	50,0
12	8	8	75,0	25,0	12,5	25,0	0	12,5	87,5	62,5
13	8	8	100,0	62,5	0	37,5	0	0	100,0	100,0
14	8	8	100,0	87,5	0	12,5	0	0	100,0	100,0
					prophylaktisch-therapeutisch kombiniert					
10	8	8	50,0	0	12,5	0	0	12,5	62,5	12,5
11	8	8	50,0	25,0	37,5	0	0	0	87,5	25,0
12	8	8	62,5	12,5	37,5	25,0	0	0	100,0	37,5
13	8	8	62,5	37,5	25,0	25,0	0	0	87,5	62,5
14	8	8	100,0	87,5	0	0	0	12,5	100,0	100,0

α) intravenös.

Es zeigte sich, daß durch die Natriumthiosulfatbehandlung ein Absinken der Mortalität bei den beiden niedrigsten Dosen zu erreichen war, während bei der Dosis von 11 mm^3/g Tier die Todesziffer der behandelten Tiere diejenige der unbehandelten mit 100% erreichte. Bei der nächst höheren Dosis von 12 mm^3/g sank die Mortalität ohne Unterschied in beiden Gruppen wieder ab (starke Streuung).

β) subkutan.

Im Verlauf dieser Versuche zeigte es sich zunächst, daß kein wesentlicher Unterschied des Erfolges zwischen 1- oder 3mal mit $Na_2S_2O_3$ behandelten Tieren besteht. Durch die prophylaktische subkutane Natriumthiosulfat-Verabreichung konnte fast durchweg die Mortalität der Tiere wesentlich herabgedrückt werden. Lediglich die höchstangewandten Dosen von 13 und 14 mm^3/g Methanol, bei denen der Sterblichkeitsprozentsatz 100% betrug, ließen keinen Einfluß des Natriumthiosulfats erkennen. Bei diesen Versuchen kam auch ziemlich deutlich zum Ausdruck, daß Natriumthiosulfat, wenn man es in der erwähnten Weise appliziert, den Ablauf der Vergiftung verzögert. Dies ergibt sich, wenn man die Verluste innerhalb 16 Std mit den Gesamtverlusten vergleicht. Die größere Stetigkeit in der Dosis-Wirkungsbeziehung hatte ihren Grund wahrscheinlich darin, daß für diese Versuchsserie eine wesentlich größere Zahl von Versuchstieren verwandt worden ist als in den vorhergehenden.

c) Mit *kombinierter prophylaktisch-therapeutischer* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Entsprechend den Erfahrungen von Laubender und Schwamb[10] wurde Natriumthiosulfat 1 Std *vor* der Vergiftung subkutan und weiterhin *nach* der Vergiftung 3mal in ½- bis 1stündigen Intervallen subkutan oder intravenös auch bei der Methanolvergiftung angewandt (siehe Tab. 1), wobei nach der prophylaktischen Injektion die eine Hälfte der Tiere weiterhin subkutan, die andere jedoch intravenös behandelt wurde. Die Ergebnisse zeigten durchweg einen stärkeren Einfluß des Natriumthiosulfats als bei allen anderen Applikationsarten. Nur bei der höchsten Dosis von 14 mm^3/g Methanol konnte die Letalität nicht mehr gesenkt werden. Ferner konnte bei allen Dosen eine Verzögerung des Vergiftungsbildes erreicht werden.

Zwischen der subkutanen und intravenösen Applikation zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede. Aus diesem Grund wurden die beiden Versuchsreihen nicht gesondert tabellarisch aufgeführt. Die große Zahl der Versuchstiere drückte die Streuung so herab, daß die Mortalitätskurve ein ziemlich stetiges Ansteigen aufweist.

Bei dieser Art der Verabreichung zeigen die behandelten Tiere zum großen Teil leichtere Vergiftungssymptome als die unbehandelten. Außerdem waren in vielen Fällen diese Symptome schneller reversibel. Schließlich war zu bemerken, daß bei vielen der behandelten Tiere Koma überhaupt nicht eintrat. Soweit aber diese Tiere doch in den komatösen Zustand gerieten, kehrten sie teilweise wieder zur Norm zurück, während Koma bei den unbehandelten Tieren fast stets zum Exitus führte.

II. Arsensäure.

a) Mit *„therapeutischer"* Anwendung von Natriumthiosulfat (siehe Tab. 2).

Bei fast allen Dosen konnte eine deutliche giftende Wirkung des Natriumthiosulfats festgestellt werden. Ferner führte Natriumthiosulfat zu einer Beschleunigung des Todeseintritts.

b) Mit *„prophylaktischer"* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Während Todesfälle in dieser Versuchsreihe ohne Natriumthiosulfatbehandlung erst bei einer Dosis von 0,07 mg/g eintraten, setzte die Natriumthiosulfat-Vorbehandlung die Schwelle auf 0,05 mg/g Tier herunter. Allerdings starben bei dieser Dosis bereits 50% der Tiere, während bei der nächstniedrigen Dosis von 0,04 noch kein Todesfall beobachtet wurde. Weiter bewirkte die Natriumthiosulfat-Vorbehandlung, daß eine Arsensäuredosis von 0,07 mg/g Tier eine Mortalität von 100% hervorrief, während bei der gleichen Dosis Arsensäure ohne Natriumthiosulfat-Vorbehandlung nur 25% starben. Die Natriumthiosulfat-Vorbehandlung verschiebt demgemäß nicht nur die wirksame Schwellendosis der Arsensäure nach unten, sondern sie läßt auch die Dosis-Wirkungskurve steiler ablaufen.

Die Natriumthiosulfat-Vorbehandlung beschleunigte aber auch das Tempo, in dem sich das Vergiftungsbild entwickelte. Viele der vorbehandelten Tiere starben bei den höheren Arsensäuredosen schon nach 2—3 Std in heftigen klonischen Krämpfen.

Auch in der Ausprägung des Vergiftungsbildes waren beträchtliche Unterschiede. Während die nicht vorbehandelten Tiere außer erhöhter Reizbarkeit oder Apathie nur wenig andere Symptome zeigten, wiesen die mit Natriumthiosulfat vorbehandelten Tiere schon bald nach der Vergiftung die volle Symptomatologie der Vergiftung auf: bald einsetzende heftige klonische Krämpfe mit längeren oder kürzeren Pausen; später Agonie und schließlich Exitus unter Harn- und Kotabgang.

c) Mit *kombiniert „prophylaktisch-therapeutischer"* Anwendung von Natriumthiosulfat.

Da sowohl bei der Anilin- und Nitrobenzolvergiftung[10] als auch bei den hier mitgeteilten Methanolversuchen die kombinierte Anwendung

von Natriumthiosulfat vor und nach der Vergiftung den stärksten Einfluß des Natriumthiosulfats erwiesen hatte, wurde auch bei den Arsensäureversuchen in analoger Weise vorgegangen.

Tabelle 2.

Arsensäureversuche: O = ohne $Na_2S_2O_3$-Behandlung; M = mit $Na_2S_2O_3$-Behandlung. Für letztere folgende Applikationsweisen: a) *„therapeutisch" subkutan*: ½ Std *nach* der Arsensäureinjektion 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier subkutan; b) *„prophylaktisch" subkutan:* ½ Std *vor* der Arsensäureinjektion 1 mal 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier subkutan; c) *„prophylaktisch-therapeutisch" kombiniert:* ½ Std *vor* der Arsensäureinjektion 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier subkutan; *nach* der Arsensäureinjektion 2 mal je 0,1 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung in ½stündigen Intervallen subkutan.

Dosis mg/g	Anzahl der Versuchstiere		Zahl der gestorbenen Tiere in % innerhalb 16 Std tot		zwischen 16 und 48 Std tot		zwischen 48 Std und 1 Woche tot		insgesamt tot	
	O	M	O	M	O	M	O	M	O	M
					„therapeutisch" subkutan					
0,04	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	4	4	0	50,0	0	0	0	0	0	50,0
0,06	4	4	0	75,0	25,0	0	0	0	25,0	75,0
0,07	4	4	25,0	50,0	0	25,0	0	0	25,0	75,0
0,08	4	4	25,0	100,0	50,0	0	0	0	75,0	100,0
0,09	4	4	100,0	100,0	0	0	0	0	100,0	100,0
					„prophylaktisch" subkutan					
0,03	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
0,04	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05	4	4	0	25,0	0	25,0	0	0	0	50,0
0,06	4	4	0	62,5	0	0	0	0	0	62,5
0,07	4	4	0	100,0	0	0	25,0	0	25,0	100,0
0,08	4	4	50,0	100,0	25,0	0	0	0	75,0	100,0
0,09	4	4	100,0	100,0	0	0	0	0	100,0	100,0
					„prophylaktisch-therapeutisch" kombiniert					
0,009	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
0,01	4	4	0	0	0	0	0	25,0	0	25,0
0,02	4	4	0	50,0	0	0	0	0	0	50,0
0,03	4	4	0	100,0	0	0	0	0	0	100,0
0,04	4	4	0	100,0	0	0	0	0	0	100,0
0,05	4	4	0	100,0	0	0	0	0	0	100,0

Hatte die „prophylaktische" Anwendung von Natriumthiosulfat die tödliche Schwellendosis der Arsensäure bereits von 0,07 auf weniger als 0,05 mg/g herabgedrückt, so bewirkte diese Versuchsanordnung ein noch viel weiteres Absinken der tödlichen Schwellendosis (siehe Tab. 2). Diese rückte auf 0,01 mg/g Tier herunter. Während Arsensäure in dem breiten Dosenbereich von 0,01—0,05 mg/g Tier ohne Natriumthiosulfat-Behandlung wirkungslos blieb, drückte sich in diesem Fall der giftende

Einfluß des Natriumthiosulfats darin aus, daß bei allen Dosen ein mehr oder minder hoher Prozentsatz der Tiere starb.

Hand in Hand mit diesem starken Ansteigen der Mortalität ging die Beschleunigung im Ablauf der Vergiftung. Die meisten Tiere starben innerhalb weniger Stunden.

Schließlich waren auch in der Ausprägung des Vergiftungsbildes bei dieser Versuchsanordnung die Unterschiede zwischen den mit und nicht mit Natriumthiosulfat behandelten Tieren größer als in den beiden vorher genannten Versuchsserien.

III. Arsenige Säure.

Wenn man für die im vorhergehenden Abschnitt gefundene giftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Arsensäurevergiftung eine Erklärung finden will, so kommt in erster Linie die Möglichkeit einer Reduktion der Arsensäure zur arsenigen Säure in vivo in Frage. Um hierfür eine experimentelle Basis zu schaffen, mußte sowohl die wirksame Grenzdosis der arsenigen Säure in unserer Versuchsanordnung als auch der Einfluß des Natriumthiosulfats auf die Arsenigsäurevergiftung geprüft werden.

Tabelle 3.

Arsenigsäureversuche: O = ohne $Na_2S_2O_3$-Behandlung; M = mit $Na_2S_2O_3$-Behandlung. Für letztere folgende Applikationsweisen: a) *„therapeutisch" subkutan*: 1 mal 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier ½ Std *nach* der Arsenigsäureinjektion subkutan; b) *„prophylaktisch" subkutan*; 1 mal 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier ½ Std *vor* der Arsenigsäureinjektion subkutan; c) *„prophylaktisch-therapeutisch" kombiniert*: 1 mal 0,2 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier ½ Std *vor* der Arsenigsäureinjektion subkutan; *nach* der Arsenigsäureinjektion 2 mal je 0,1 cm³ 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung pro Tier in ½stündigen Intervallen sukutan.

Dosis mg/g	Anzahl der Versuchstiere		Zahl der gestorbenen Tiere in % innerhalb 16 Std tot		zwischen 16 und 48 Std tot		zwischen 48 Std und 1 Woche tot		insgesamt tot	
	O	M	O	M	O	M	O	M	O	M
Dosenabhängigkeit der reinen Arsenigsäure-Vergiftung										
0,007	4		0		0		0		0	
0,008	4		0		0		0		0	
0,009	4		0		0		0		0	
0,01	4		25,0		25,0		0		50,0	
0,015	4		100,0		0		0		100,0	
0,02	4		100,0		0		0		100,0	
„therapeutisch" subkutan										
0,01	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0
„prophylaktisch" subkutan										
0,01	4	4	25,0	25,0	0	0	0	0	25,0	25,0
„prophylaktisch-therapeutisch" kombiniert										
0,01	4	4	25,0	25,0	0	0	0	0	25,0	25,0

Gemäß den Angaben in der Literatur[15], wonach die subkutan tödliche Dosis der arsenigen Säure an der Maus 0,011—0,013 mg/g Körpergewicht beträgt, wurden 6 Dosen von arseniger Säure, die zwischen 0,007 und 0,02 mg/g Tier lagen, geprüft (siehe Tab. 3). Es ergab sich in Übereinstimmung mit den Literaturangaben, daß die tödliche Grenzdosis bei 0,01 mg/g Tier lag.

Um einen eventuellen Einfluß des Natriumthiosulfats auf die Arsenigsäurevergiftung festzustellen, wurde als vergiftende Arsenigsäuredosis 0,01 mg/g Tier gewählt, da bei dieser Dosis Effekte nach der einen oder anderen Seite bei der offensichtlichen Steilheit der Dosis-Wirkungskurve am ehesten feststellbar waren. Es zeigte sich (siehe Tab. 3), daß weder die „therapeutische", noch die „prophylaktische", noch die kombiniert „prophylaktisch-therapeutische" Anwendung von Natriumthiosulfat einen Einfluß auf die Mortalität der Arsenigsäurevergiftung hatte.

D. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Bei der Beurteilung des Einflusses des Natriumthiosulfats auf die *Methanolvergiftung* war störend die starke Streuung sowohl bei den behandelten als auch bei den nicht behandelten Tieren.

Die therapeutische wie die prophylaktische intravenöse Natriumthiosulfat-Darreichung führten zu keiner sehr gesetzmäßigen Verschiebung der Konzentrations-Wirkungskurve. Im ganzen sank bei dieser Art der Natriumthiosulfat-Anwendung die Mortalität ein wenig. Dagegen führte die prophylaktische *subkutane* Natriumthiosulfat-Anwendung zu gesetzmäßigeren Resultaten und zu einer stärkeren Senkung der Mortalität. Am meisten nahm die Mortalität durch die kombinierte prophylaktisch-therapeutische Natriumthiosulfat-Anwendung ab.

Danach steht fest, daß Natriumthiosulfat eine entgiftende Wirkung auf die experimentelle Methylalkoholvergiftung ausübt, wobei der Grad der entgiftenden Wirkung in ähnlicher Weise von der Applikationsweise abhängt, wie das Laubender und Schwamb[10] für die entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der experimentellen Anilin- und Nitrobenzolvergiftung gefunden haben.

Die einfachste Erklärung für die entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Methylalkoholvergiftung wäre gemäß den in der Einleitung gemachten Ausführungen die Annahme, daß Natriumthiosulfat vermöge seiner Reduktionskraft die im Intermediärstoffwechsel durch Oxydation aus Methylalkohol entstehenden hochtoxischen Zwischenprodukte Formaldehyd und Ameisensäure reduziert.

Die Voraussetzung für eine solche Erklärung wäre die Feststellung, daß Formaldehyd und Ameisensäure wesentlich giftiger sind als Methylalkohol. In der Tat fand Sammartino[16] bei intravenöser Injektion am Kaninchen Formaldehyd 6mal und Ameisensäure 20mal giftiger als Methylalkohol: diesen Befunden ist allerdings von Simon[17] widersprochen worden.

Überblickt man den Einfluß des Natriumthiosulfats auf die *Arsensäurevergiftung* (siehe Tab. 2), so zeigt sich, daß alle Formen der Applikation zu einer beträchtlichen Steigerung der Arsensäuregiftigkeit führten. Eine ganz besonders hohe Steigerung konnte durch die kombinierte Anwendung von Natriumthiosulfat *vor und nach* der Arsensäure-Injektion erreicht, nämlich die tödliche Grenzdosis auf $^1/_5$ des ursprünglichen Wertes gesenkt werden.

Die Erklärung für die starke Toxizitätssteigerung, die Arsensäure durch Natriumthiosulfat erfährt, kann wohl nur in einer Begünstigung der Reduktion des 5-wertigen zum 3-wertigen Arsens erblickt werden, das ja als der eigentliche Träger der Giftwirkung gilt. Diese Schlußfolgerung wird durch zwei weitere experimentelle Befunde, die im vorstehenden erhoben wurden, gestützt. Einmal konnte nämlich gezeigt werden, daß die tödliche Grenzdosis der arsenigen Säure bei unserer Versuchsanordnung zwischen 0,009 und 0,01 mg arseniger Säure pro Tier liegt. Die Giftigkeitssteigerung, die die Arsensäure durch Natriumthiosulfat erfuhr, konnte genau bis zu dieser Grenze, aber nicht darüber hinaus, geführt werden. Zweitens konnte in Übereinstimmung mit den Versuchen von Skaduto[18, 19] gezeigt werden, daß die Natriumthiosulfat-Behandlung keinen Einfluß auf die Mortalität bei der Arsenigsäurevergiftung ausübt, gleichgültig, in welcher Art Natriumthiosulfat appliziert wird.

Die beiden in dieser Arbeit gefundenen Tatsachen, daß Natriumthiosulfat bei der Methanolvergiftung entgiftend, bei der Arsensäurevergiftung dagegen stark giftend wirkt, finden ihre einfachste Erklärung in der Annahme eines sich stets gleichbleibenden Wirkungsmechanismus des Natriumthiosulfats, der sich auf seine reduktiven Kräfte gründet.

E. Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß von Natriumthiosulfat auf die experimentelle akute Methanol-, Arsensäure- und Arsenigsäure-Vergiftung, gemessen an der prozentualen Sterblichkeit von Mäusen, mit und ohne Natriumthiosulfat, untersucht. Insgesamt wurden für die Methanolversuche 280, für die Arsensäureversuche 152 und für die Arsenigsäureversuche 48 Mäuse verwandt.

Die Tiere erhielten Methanoldosen von 8—14 mm^3/g, Arsensäuredosen von 0,009—0,09 mg/g und Arsenigsäuredosen von 0,007—0,02 mg/g Tier appliziert. Natriumthiosulfat wurde ein- oder mehrmals in Dosen von 0,2 bzw. 0,1 cm^3 10%iger $Na_2S_2O_3$-Lösung *nach* Giftapplikation (therapeutisch), *vor* Giftapplikation (prophylaktisch) oder *vor und nach* Giftapplikation (prophylaktisch-therapeutisch kombiniert) gegeben.

2. Bei der Methanolvergiftung führte die therapeutische und prophylaktisch intravenöse $Na_2S_2O_3$-Darreichung nur zu einer geringen Herabsetzung der Mortalität. Die prophylaktisch subkutane Zuführung senkte

die Mortalität stärker. Bei der kombiniert prophylaktisch-therapeutischen Zuführung zeigte sich die stärkste Herabsetzung der Mortalität.

3. Bei der Arsensäurevergiftung führte sowohl die vorhergeschickte, wie die nachträglich angewandte Natriumthiosulfatgabe zu Steigerungen der Mortalität, die sich untereinander wenig unterschieden. Bei der kombinierten Anwendung von Natriumthiosulfat *vor und nach* der Arsensäurevergiftung steigerte sich die Giftigkeit der Arsensäure bis zum Fünffachen. Unter diesen Bedingungen wurden schließlich Arsensäure und arsenige Säure gleich giftig.

4. Auf die Arsenigsäurevergiftung hatte Natriumthiosulfat keinen Einfluß.

5. Als Erklärung für die entgiftende Wirkung des Natriumthiosulfats bei der Methylalkoholvergiftung und für die giftende Wirkung bei der Arsensäurevergiftung wird ein gemeinsamer reduktiver Wirkungsmechanismus des Natriumthiosulfats diskutiert.

Literatur.

[1] Sammartino, U.: Arch. Farmacol. sper. **56**, 364 (1933). — [2] Simon, J.: Boll. Soc. Biol. sper. **8**, 1376 (1933). — [3] Egg, C.: Schweiz. med. Wschr. **57**, Nr. 1, 5 (1927). — [4] Eichholtz, F.: Lehrbuch der Pharmakologie, 5. Aufl. S. 195, 1947. — [5] Heffter, A.: Handbuch d. exper. Pharmakologie **1**, 381 (1923). — [6] Leo, H.: Dtsch. med. Wschr. **51**, Nr. 26, 1062 (1925). — [7] Keeser, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **160**, 687 (1931). — [8] Hale, W., u. R. Gans: J. of Pharmacol. **25**, 144 (1925). — [9] Leo H.: Dtsch. med. Wschr. **51**, 1096 (1925). — [10] Laubender W. u. P. Schwamb: Arch. exper Path. u. Pharmakol. **212**, 356 (1951). — [11] Ringer, Sydney u. Harrington Sainsbury: Brit. med. Journ. II, 1134, 1193 (1882). — [12] Meneghetti, E.: Arch. di Sci. biol. **1**, Nr. 3/4 273, (1920). — [13] Binz, C.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **38**, 259 (1897). — [14] Heffter u. Hausmann: Hofmeisters Beiträge **5**, 213 (1904). — [15] Willberg M.: Biochem. Z. **51**, 231 (1913). — [16] Sammartino U.: Arch. Farmacol. sper. **56**, 351 (1933). — [17] Simon, J.: Boll. Soc. Biol. sper. **8**, 1376 (1933); gemäß Referat in Ronas Berichte **78**, 162 (1934). — [18] Skaduto: Boll. Soc. Biol. sper. **6**, 578 (1931). — [19] Skaduto: Arch. internat. Pharmacodynamie **41**, 290 (1931).

Prof. Dr. W. Laubender, Frankfurt a. M.,
Pharmakologisches Institut der Universität

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 376—385 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. Lendle).

Kritisches zur Digitalisauswertung am Meerschweinchen.

Von
G. Hoffmann und L. Lendle.

(Eingegangen am 5. August 1950.)

Gegen das in Deutschland noch amtlich vorgeschriebene Verfahren der Digitalisauswertung an Fröschen ist vielfach geltend gemacht worden, daß es wegen der schwankenden Empfindlichkeit der Versuchstiere nur in gewissen Jahreszeiten möglich ist und daß die Empfindlichkeitsunterschiede gegen verschiedene Glykoside nicht parallel gehen, so daß die Vergleichsbestimmung mit einem Blätter- oder Strophanthin-Standardpräparat nicht immer zuverlässig sei.

W. Straub[1], der die Froschmethode selbst systematisch ausgebaut hatte, hat zuletzt vorwiegend Auswertungen am Meerschweinchen durchgeführt und sich bemüht, einen Umrechnungsfaktor für Froschdosen aus den Titrationsergebnissen am Meerschweinchen nach dem Verfahren von Knaffl-Lenz zu ermitteln. Über günstige Erfahrungen am Meerschweinchen berichteten auch Hildebrandt[2], Goldberg[3] und viele andere Autoren. Diese Auswertung ist daher in angelsächsischen Ländern heute neben der Titration an Katzen nach Hatcher üblich.

Bei der Infusion von Digitalisglykosiden an Katzen hat man häufig auf die Abhängigkeit der Wirksamkeit von der *Dosierungsgeschwindigkeit* hingewiesen. Da die Digitalisstoffe erst mit einer gewissen Latenz wirksam werden, besteht die Möglichkeit, daß bei zu schneller Titration im Zeitpunkt des Todes noch nicht alle eingeführten Glykosidmengen gebunden sind oder zur Wirkung gelangten, daß also „übertitriert" wurde. Dieser Fehler kann beträchtlich sein. Lendle[4] hat solche Zahlenwerte mit kritischen Folgerungen zusammengestellt.

Hildebrandt[5] hat neuerdings seine entsprechenden Erfahrungen bei zahlreichen Auswertungen von g-Strophanthin an Katzen mathematisch verarbeiten lassen. Es ergab sich dabei, daß mit abnehmender Dosierungsgeschwindigkeit eine Verminderung der tödlichen Dosis erfolgte nach dem Gesetz einer Hyperbel.

Hatcher machte früher den Vorschlag, etwa 50—70% der tödlichen Dosis in kurzer Zeit intravenös zu injizieren und nach einer Pause von einigen Stunden in einer langsamen Nachtitration die erforderlichen Reste bis zum Eintritt des Herzstillstandes zu ermitteln. Lendle[4] forderte, die Dosierungsgeschwindigkeit bei der Titration solle so langsam gewählt werden, daß der Tod frühestens in 40—60 min eintritt. Die so an der Katze gefundenen Werte dürften aber für die meisten Glykoside noch sehr hoch sein. Infundiert man jedoch zu langsam, so besteht auch die Gefahr, daß inzwischen ein Teil des Glykosids eliminiert wird, weil man zu langsam nachliefert. Auch so kann man bei schnell eliminierbaren Glykosiden zu hohe Werte titrieren.

Am Meerschweinchen hat man diese beiden Faktoren meist weniger beachtet. Straub infundierte anfangs so schnell, daß die tödliche

Wirkung in 6—15 min eintrat. Später machte er aber die Beobachtung, daß die infundierte Konzentration für die Toxizität von Bedeutung sein kann. Er bestimmte mit seinen Mitarbeitern[6] solche Abhängigkeiten kurvenmäßig und beschrieb sie als für einzelne Glykoside charakteristisch.

Außer der Gefahr der „Übertitration" bei zu schneller oder zu langsamer Infusionsgeschwindigkeit ist bei den Auswertungen am narkotisierten Meerschweinchen auch die Möglichkeit einer *Lähmung der Atmung vor dem Herzstillstand* zu beachten.

Das Verhalten der Nagetiere gegenüber Digitoxin ist im Vergleich zu dem anderer Warmblüter oft beschrieben worden; insbesondere KINUKAWA[7], YERNAUX[8] u. a. haben bei Ratten, Mäusen und anderen Nagetieren gezeigt, daß bei Bestimmung der tödlichen Dosierungen der Tod oft an Atemstillstand vor dem Herzstillstand eintritt. KINUKAWA fand zwar bei Ratten nur etwa 25—40% Unterschiede in der letalen Dosierung, wenn er die Tiere künstlich beatmete. Auch HEUBNER und VON NYARY[9] haben diese Fehlermöglichkeit kritisch bei ihrer Dauerinfusion an Ratten beachtet, wo sie überdies Digitoxin in alkoholreicher Lösung an narkotisierten Tieren verwenden mußten. Bei Ratten, deren Herzen selbst digitalisresistent sind, müßte in der vielfach höheren tödlichen Dosierung eigentlich eine etwaige Lähmung des Zentralnervensystems besonders deutlich in Erscheinung treten. LENDLE und OLDENBURG[10] haben aber solche Lähmungen an nichtbetäubten Ratten auch erst in Dosierungen gefunden, die vielfach höher als die bei Katzen und Meerschweinchen herzletalen Dosen liegen, so daß man vielleicht annehmen kann, die erwähnte Atmungslähmung müsse erst in Kombination mit der Narkose oder auch erst in Abhängigkeit von der Herzschädigung eine Bedeutung gewinnen.

Wir haben im folgenden Auswertungen an Meerschweinchen unter Berücksichtigung der hier kritisch erörterten Punkte und unter zum Teil absichtlich stark variierten Bedingungen ausgeführt, um die Bedingungen weiter einzugrenzen, die bei Auswertungen einzuhalten sind. Wir benutzten bei unseren Versuchen g- und k-Strophanthin, Digitoxin, Lanadigin und Digitoxigenin.

Versuchsanordnung.

Für die gleichmäßige Dauerinfusion verwendeten wir ein von G. HOFFMANN[11] beschriebenes Gerät. Die Meerschweinchen erhielten 60—120 min vor Versuchsbeginn Urethan 1,2 g/kg subkutan und wurden warmgehalten. Die Infusion erfolgte in die freigelegte Vena jugularis. Während dieses Eingriffs wurde meist etwas Äther zudosiert.

Die Konzentration der schwer löslichen Glykoside wurde aus alkoholischer Stammlösung hergestellt unter Verwendung eines indifferenten Emulgators (Adhaegon/Heyden). Digitoxin-Konzentrationen 1 : 40 000 enthielten noch 7,0% Alkohol und 0,5 % Adhaegon. Für höhere Dosierungsgeschwindigkeiten wurden Konzentrationen 1 : 10 000 mit 15% Alkohol und 0,5% Adhaegon hergestellt. Nebenwirkungen des Alkohols konnten unter diesen Dosierungsbedingungen noch ausgeschlossen werden.

Die Berechnung der Streuung der tödlichen Dosen erfolgte nach den Vorschriften von DE LIND VAN WIJNGAARDEN[12].

I. Titration bei verschiedener Dosierungsgeschwindigkeit.

Von den verschiedenen geprüften Glykosidstoffen seien nur die Bedingungen und Ergebnisse der Digitoxinversuche genauer zahlenmäßig in Tab. 1 angeführt. Diese Zusammenstellung zeigt, daß trotz schwankender Gewichte der Versuchstiere (225—805 g), trotz absichtlich variierter Dosierungsgeschwindigkeit (0,71—4,1 mg/kg/50 min) die tödliche Dosierung relativ geringe Schwankungen um einen Mittelwert von 1,08 mg/kg $\pm$ 5,6% zeigte. Auch der Zeitpunkt des tödlichen Herzstillstandes (auskultatorisch festgestellt) schwankte stark (10—98 min). Dieses Ergebnis weckte unser Erstaunen. Es bestätigte sich aber bei vielen weiteren Versuchen mit anderen Glykosiden. Es erfolgte also in dem von uns geprüften Bereich keine „Übertitration", weder bei der langsamen noch bei der schnellen Infusion. Es ist auch kein „Gang" in den ermittelten Werten zu erkennen, der eine Abhängigkeit vom Zeitfaktor erkennen läßt. Auch die Schwankungen der Tiergewichte scheinen nicht so bedeutsam zu sein, wie wir es nach den Angaben von Rothlin[13] erwartet hatten, der bei der Titration von Digilanid am Meerschweinchen erhebliche Unterschiede gefunden hatte: letale Dosis bei 470 g Tier betrug 0,655 mg/kg und bei 320 g Tier 1,08 mg/kg. Danach waren jüngere Tiere resistenter.

Das Geschlecht der Versuchstiere scheint bei Meerschweinchen nach neuen Befunden von Fr. und O. Dybing[14] keine Bedeutung zu besitzen für die Resistenz gegen Lanatosid. Selbst bei schwangeren Weibchen war nach Berücksichtigung des Gewichtes der Embryonen die gefundene tödliche Dosis (0,82 mg/kg) fast identisch mit der bei Männchen und nichtschwangeren weiblichen Tieren.

Die Versuchsergebnisse mit anderen Glykosiden sind in Tab. 2 unter Miteinbeziehung der Digitoxinversuche kurz zusammenfassend dargestellt. Auch darin sind wieder die absichtlichen Schwankungen der Dosierungsgeschwindigkeit angegeben und außer den mittleren tödlichen Dosen mit ihrer Streuung auch die Maximalabweichungen.

Tabelle 1. *Digitoxintitration am Meerschweinchen mit wechselnder Infusionsgeschwindigkeit.*

Nr.	Gewicht	Konzentration	mg/kg/50 min	letale Wirkung	
				Zeit in min	mg/kg
56	260	1 : 10 000	4,1	10,5	0.86
55	265	1 : 10 000	4,05	10,5	0,85
43	270	1 : 10 000	3,9	15	1,17
50	285	1 : 10 000	3,66	16	1,17
13	805	1 : 10 000	2,31	26	1,20
12	590	1 : 20 000	1,22	45	1,10
54	284	1 : 40 000	0,98	56	1,11
10	705	1 : 20 000	0,76	55	0,83
53	225	1 : 40 000	0,71	98	1,40
					1,08 $\pm$ 5,6%

Tabelle 2. *Titration mit wechselnder Infusionsgeschwindigkeit.*

Stoff	Versuchszahl	Dosierungsgrenzen mg/kg/50 min	mittlere letale Dosis mg/kg	Fehler	Maximale Abweichungen letale Dosis	Zeiten in min
Digitoxin . .	9	0,71—4,1	1,08	± 5,6%	0,83—1,40	11—98
Lanadigin . .	8	0,5 —1,28	0,8	± 9%	0,58—1,04	22—78
k-Strophanthin . . .	12	0,21—2,0	0,67	± 7%	0,42—0,86	11—145
g-Strophanthin . . .	7	0,24—0,87	0,25	± 9%	0,15—0,32	12—55
Digitoxigenin . .	5	2,5—4,75	1,40	± 12%	0,83—1,79	15—35

Aus den hier veröffentlichten Einzeldaten ergibt sich, daß bei allen Stoffen bei der kurzen Dosierungsgeschwindigkeit in keinem Falle eine „Übertitration" erfolgte und daß bei langsamer Dosierung ab 40—60 min oft schon eine Steigerung der tödlichen Dosis erkennbar wurde, was nur im Sinne eines Wirkungsverlustes durch Eliminationsvorgänge zu deuten ist. Für Digitoxin ist dieser Fehler wohl am geringsten.

Einige Zahlenwerte mögen mit Angaben in der Literatur verglichen werden: Straub fand für Digitoxin bei durchschnittlicher Infusionsgeschwindigkeit von 56 min eine letale Dosis von 0,96 mg/kg, bei 38 min 1,2 mg/kg und bei 19 min 1,2 mg/kg tödlich. Leider hat Straub seine Tabellen und Kurven nicht in Abhängigkeit von der Dosierungsgeschwindigkeit, sondern von den absoluten Lösungskonzentrationen geordnet, somit die Abhängigkeit der L.D. von der individuellen Zufuhrgeschwindigkeit vernachlässigt, worauf auch schon Hildebrandt hinwies. Man kann aber soviel ersehen, daß bei einer Infusionsdauer des Digitoxins von über 10 min der Wert auch bei Änderung der Konzentration um 400% praktisch konstant bleibt und eine merkliche Übertitration erst bei kürzeren Versuchszeiten in Erscheinung tritt. Ein Gleichbleiben des Wertes für Infusionszeiten bis zu 2 Std berichtete übrigens auch Herre[15].

Für g-Strophanthin fand Straub 0,26 mg/kg als tödliche Dosis in 18 min. Wir ermittelten 0,25 mg bei Infusionsgeschwindigkeit von 12—55 min. Bei unseren Titrationen zeigte sich ein Anstieg ab 40 min. Die Streuung war daher auch, verglichen mit den Digitoxinversuchen, größer. Auch Herre fand gerade für g-Strophantin ein relativ früheres Anwachsen der tödlichen Dosis und Oestling[16] beschrieb das gleiche ab 25 min Infusionszeit. Noch deutlicher als beim g-Strophanthin kommt das frühe Ansteigen der Dosis beim k-Strophanthin zum Ausdruck, wo bei Verdoppelung der Dosierungsgeschwindigkeit der Wert von 0,48 mg/kg auf 0,81 mg/kg ansteigt. Reiser fand bei durchschnittlicher Infusionsdauer von 15 min einen Wert von 0,58 mg/kg, Straub für 32 min 0,59 mg/kg. Einen ähnlichen Befund erhob Mehnert[17] an der Ratte, wo er den niedrigsten Wert mit 9,4 mg/kg für eine Infusionzeit von 12 min fand.

Beim Digitoxigenin fällt eine besonders starke Streuung auf. Dies erklärt sich wohl aus einer Behinderung der Atmung, die vor Auftreten der Herzaktion erlosch, so daß hier ohne künstliche Beatmung eine genaue Testung des Herzstillstandes nicht möglich war, somit der Mittelwert von 1,4 mg/kg ± 12% (= 116% gegen Digitoxin) in dieser Beziehung

kritisch zu betrachten ist. Ferner bekamen die Tiere in der Regel bei ungefähr der halben tödlichen Dosis sich bis zum Tode steigernde Krämpfe. Diese Erscheinungen traten unter der Narkose besonders stark bei längeren Infusionszeiten hervor. Auf die große Streuung bei Digitoxigenin weisen für die Katze Mehnert und Fromherz[18] hin. Walther[19] stellte auch beim EKG der Katze einen uneinheitlichen Wirkungsmechanismus fest. Neumann[20] berichtet, daß beim Digitoxigenin an der Katze alle Tiere an Atemlähmung starben.

Auch mit *Strophanthidin* wurden einige Titrationen ausgeführt. Bei Infusionszeiten von 40—50 min bis zum Eintritt des Todes wurde eine mittlere tödliche Dosis von 7,5 mg/kg ± 4% gefunden. Dieser Wert liegt von der tödlichen Dosis des k-Strophanthins sehr viel weiter entfernt, als wir dies für das Digitoxigenin im Verhältnis zum Glykosid gefunden hatten. Auch hier erfolgte die Atmungslähmung vor dem Herzstillstand.

II. Eliminationsgröße beim Meerschweinchen.

Im vorausgehenden ist mehrfach auf die störende Elimination bei zu langsamer Infusion hingewiesen worden. Diese Fähigkeit der Digitalisstoffe ist nach vergleichenden Untersuchungen von Lendle[21] bei Kaninchen deutlich größer als bei Katzen. Besonders groß fanden Heubner und v. Nyary[9] die Eliminationsgröße bei den digitalisresistenten Ratten. So besitzen Nagetiere wahrscheinlich eine stoffwechselmäßig bedingte Vorzugsstellung, die bei Verwendung dieser Tierart zur Digitalisauswertung aber auch nachteilig sein kann. Für Meerschweinchen war ein Eliminationsfaktor noch nicht bekannt.

Wir bemühten uns in ähnlicher Weise, wie das von Heubner und von Nyary, Lendle und Mitarbeitern, Mehnert u. a. früher beschrieben wurde, einen solchen Faktor bei langer Dauerinfusion zahlenmäßig zu ermitteln. Dabei kann man so vorgehen, daß man mit unterschwelliger Dosierungsgeschwindigkeit das Glykosid sehr langsam einströmen läßt und nach einer gewissen Zeit schnell nachtitriert.

Tab. 3 bringt zunächst solche Versuche für *Digitoxin*. Es ist darin angegeben, bis zu welcher Dauer eine gewisse Dosierungsgeschwindigkeit nicht tödlich wirkt und welche Dosis bis dahin infundiert war. Bei Zusammenrechnung der gesamten injizierten Menge bis zu dem Zeitpunkt der tödlichen Wirkung bei der schnellen Nachtitration und bei Abrechnung der für Digitoxin früher gefundenen tödlichen Dosis (1,08 mg/kg in 50 min) ergab sich dann die „Überdosierung" in mg/kg und die verlängerte Zeit. Daraus ließ sich wieder die Eliminationsgröße in mg/kg/Std ausrechnen (letzte Spalte). Für Digitoxin ergab sich aus 5 derartigen Versuchen eine mittlere Eliminationsgeschwindigkeit von 0,241 mg/kg/Std oder 21% der tödlichen Dosis pro Stunde. In einer früheren Arbeit hat Lendle[21] für Digitoxin folgende Eliminationswerte gefunden:

an Kaninchen 0,12 mg/kg/Std = 20% let. Dos.
an Katzen 0,003 mg/kg/Std = 2% let. Dos.

Die relative Entgiftungsfähigkeit des Meerschweinchens dürfte also der des Kaninchens entsprechen.

Für *g-Strophanthin* sind die entsprechenden Versuche, mit dem gleichen Verfahren ausgewertet, in Tab. 4 zusammengestellt (als tödliche Dosis wurde hier 0,25 mg/kg in 30 min zugrunde gelegt). Es ergibt sich daraus eine Eliminationsgröße von 0,108 mg/kg/Std = 43% letale Dosis pro Stunde. In früheren Arbeiten hatte LENDLE für g-Strophanthin folgende Werte ermittelt:

an Kaninchen 0,03 mg/kg/Std = 20% let. Dos. pro Stunde
an Katzen 0,006 mg/kg/Std = 6% let. Dos. pro Stunde

In den vorstehenden Versuchen mit g-Strophanthin ist ein gewisser Unsicherheitsfaktor enthalten, weil einige Male (durch + gekennzeichnet) der Herztod erst nach dem Atmungsstillstand unter Beatmung eintrat. Diese unspezifische Verhaltensweise war bei Versuchen mit k-Strophanthin fast regelmäßig, wenn man so langsam infundierte, daß der Tod in mehr als 40 min erfolgt.

Der in Tab. 2 angegebene Mittelwert für die tödliche Dosis von *k-Strophanthin*, der aus Versuchen mit verschiedener Dosierungsgeschwindigkeit berechnet war, dürfte daher auch etwas zu hoch angesetzt sein.

Tabelle 3. *Eliminationsgeschwindigkeit von Digitoxin.*

Nr.	Gewicht	Konzentration	Dosierungs-Geschw. mg/kg/50 min	letale Wirkung in min	letale Wirkung mg/kg	Überdosierung mg/kg	Überdosierung in min	Elim. Größe
51	350	1 : 50 000	0,29	— in 240	1,40			
			1,17	+ „ 18	0,435	0,75	208	0,216
44	325	1 : 50 000	0,37	— „ 172	1,08			
			1,26	+ „ 24	0,604	0,60	146	0,248
52	290	1 : 40 000	0,44	— „ 172	1,51			
			1,77	+ „ 6	0,23	0,66	128	0,309
58	315	1 : 65 000	0,50	— „ 75	0,763			
			0,25	+ „ 240	1,244	0,93	265	0,210
57	280	1 : 100 000	0,50	— „ 75	0,75			
			0,17	— „ 240	0,817			
			0,69	+ „ 50	0,685	1,17	315	0,223

Tabelle 4. *Eliminationsgeschwindigkeit für g-Strophanthin.*

Nr.	Gewicht	Konzentration	Dosierungs-Geschwindigkeit	letale Wirkung in min	letale Wirkung mg/kg	Überdosierung mg/kg	Überdosierung in min	Elim. Größe
90	355	1 : 150 000	0,107	— in 140	0,30			
			0,391	+ „ 31	0,243	0,293	141	0,125
92	310	1 : 150 000	0,11	— „ 149	0,327			
			0,445	+ „ 9	0,08	0,157	128	0,074
87	500	1 : 80 000	0,147	+ „ 118+	0,35	0,10	88	0,068
89	275	1 : 120 000	0,154	+ „ 131+	0,403	0,153	101	0,091
85	316	1 : 120 000	0,169	— „ 130	0,44			
			0,5	+ „ 15	0,155	0,345	115	0,180

+ Die Atmung setzte vor Herzstillstand aus. Der Herztod wurde bei weiterer Beatmung abgewartet.

Einwandfreie Werte erhält man bei schnellerer Infusion bis zum Tod in 12—25 min (etwa 0,55 mg/kg), während bei längerer Infusionszeit die tödliche Dosis bei 0,7—0,8 mg/kg in 40—140 min liegt, mit größerer Streuung als bei sonstigen Auswertungen. Atmungslähmungen stören die Sicherheit bei diesen langdauernden Infusionen. Eine Eliminationsgröße ließ sich daher nicht zahlenmäßig legen.

Auch für ein Genin, das *Digitoxigenin*, haben wir versucht, die Eliminationsgröße zu bestimmen, weil die Möglichkeit bestehen kann, daß in Präparaten eventuell auch in Folia Digitalis auf Grund von Zersetzungsprozessen ein Teil des Digitoxins aufgespalten wird. Der Auswertungsfehler könnte dadurch beträchtlich werden, wenn das vermutlich schneller eliminierbare Genin zu langsam infundiert würde. Bei unseren Versuchen ergab sich eine große Schwierigkeit, weil das Genin schon in der halben tödlichen Dosis Krämpfe erzeugte (trotz der Urethandosis!) und nach vorübergehender Atmungserregung zum Atemstillstand vor dem Herzstillstand führte. Wir geben in Tab. 5 die ausgeführten Versuche wieder. Wir bemühten uns unter Bezug auf die tödliche Dosis (1,4 mg/kg in 25 min) auch in den 4 geeigneten Versuchen einen Eliminationswert zu errechnen. In 3 weiteren Versuchen verstarben aber die Tiere trotz relativ langsamer Dosierungsgeschwindigkeit mit Dosen, die noch unterhalb der früher bei schnellerer Infusion ermittelten tödlichen Dosis lagen. Es dürften hier wohl die Krämpfe unspezifisch schädigend mitgewirkt haben. Nur mit großem Vorbehalt mag daher eine mittlere Eliminationsgröße von 1,33 mg/kg/Std = 90% der letalen Dosis pro Stunde berechnet werden.

Tabelle 5. *Eliminationsgeschwindigkeit für Digitoxigenin.*

Nr.	Gewicht	Konzentration	Dosierungs-Geschw. mg/kg/50 min	letale Wirkung		Überdosierung		Elim. Größe
				in min	mg/kg	mg/kg	in Zeit	
81	425	1 : 20 000	1,0	+ in 62	1,24	—	—	—
75	290	1 : 20 000	1,02	— „ 130	2,64			
			2,25	+ „ 21	0,85	2,09	126	1,0
82	390	1 : 150 000	1,02	— „ 130	2,65			
			3,47	+ „ 9	0,59	1,84	114	0,97
83	520	1 : 150 000	1,02	+ „ 47	0,96	—	—	—
66	250	1 : 20 000	1,43	+ „ 35	1,00	—	—	—
65	305	1 : 10 000	1,67	+ „ 70	0,35	0,95	45	1,26
59	355	1 : 10 000	2,0	+ „ 105	4,18	2,78	80	2,08

III. Atemlähmung durch verschiedene Digitalisstoffe.

Die wohl zuerst von Kinukawa[7] an Ratten und Mäusen beschriebene Atmungslähmung nach Digitalisstoffen muß die Auswertung an diesen Tieren problematisch erscheinen lassen. Wir haben im vorausgehenden

gezeigt, daß diese Todesursache auch bei Meerschweinchen eine zunehmende Rolle in folgender Reihe der Digitalisstoffe spielt: Digitoxin (kaum) < Lanadigin < g-Strophanthin < k-Strophanthin < Strophanthidin < Digitoxigenin und daß sie besonders deutlich in Erscheinung tritt, wenn die Infusionsgeschwindigkeit gering gewählt wird, so daß die tödliche Wirkung spät eintritt.

Für die Deutung dieser Atmungslähmung bestehen verschiedene Möglichkeiten.

Santesson[22] hat schon früher an Kaninchen nach Injektionen von Digitalisstoffen eine Lähmung der Nackenmuskulatur beschrieben, wobei die Tiere ihren Kopf flach auf den Boden legten (heute nennt man dieses Verhalten bei der Curarinauswertung „head drop"). Ich glaube aber nicht, daß es sich dabei um eine echte Muskellähmung gehandelt hat. Man kann übrigens das gleiche Phänomen auch nach Injektionen von toxischen Dosen des Hypophysenhinterlappenhormons beobachten (Lendle)[23], wo vielleicht die Coronarverengerung und akute Herzschädigung die Ursache dieses Verhaltens ist.

Eine direkte Wirkung von Digitalisstoffen auf das Zentralnervensystem erscheint heute auch stoffwechselmäßig nicht ausgeschlossen, seitdem Wollenberg[24] für therapeutische Strophanthinkonzentrationen nicht nur am isolierten Herzgewebe, sondern auch gerade an Hirngeweben Störungen der Oxydationsvorgänge nachgewiesen hat. Mit einer solchen Deutung wäre besonders leicht die Feststellung zu vereinbaren, daß erst bei längerer Einwirkungszeit die Lähmung stärker auftritt.

Gegen eine direkte Lähmung am Zentralnervensystem sprechen andererseits Erfahrungen von Lendle und Oldenburg[10] über extrakardiale Wirkungsbedingungen von Digitalis an Ratten, die wegen der hohen Digitalisresistenz ihrer Herzen mit 30—100fach höheren Dosen belastet werden können als andere Warmblüter. Unter diesen Bedingungen hätte eine zentralnervöse Lähmung besonders deutlich werden müssen, insbesondere auch in Kombination mit der Narkose.

Bei früheren Untersuchungen an Ratten fanden wir aber folgende zahlenmäßigen Ergebnisse, aus welchen wohl keine direkte Lähmung abgeleitet werden kann.

Tabelle 6.

	tödliche Dosis (mg/kg)		Positive EKG-Befunde
	ohne Narkose	mit Narkose	
k-Strophanthin	20	12	(5)—12
Digitoxin	20	15	15

Es war an der Ratte in diesen hohen tödlichen Dosen bei gleichzeitiger Urethan-Narkose schon immer ein positiver EKG-Befund beteiligt, aber freilich auch erst mit diesem Dosenbereich beginnend. Mit kleineren Dosen von 2—10 mg/kg waren neben Temperatursenkungen nur leichte Gangstörungen, nie aber direkte motorische Lähmungen beobachtet worden. Auch bei Elektroschockversuchen an Ratten wurden geringe Hemmungen der Erregung erst ab 15 mg/kg Strophanthin und ab

30 mg/kg Strophanthidin festgelegt (Lendle und Oldenburg[10]). Die Mitbeteiligung der direkten Atmungslähmung muß sich bei Versuchen mit künstlicher Atmung erkennen lassen.

Kinukawa[7] hat schon Auswertungen an Ratten in leichter Narkose unter diesen Bedingungen vergleichend angestellt. Er fand folgende tödliche Dosierung in Milligramm/Kilogramm:

Tabelle 7.

	g-Strophanthin	Digitoxin
ohne Beatmung	26,4	33
mit Beatmung	34,1	44

Der Unterschied betrug also etwa 33%.

Wir haben ähnliche Versuche an Ratten mit Lanadigin ausgeführt und fanden bei der Titration größere Unterschiede (60%)

ohne Beatmung 30,3 mg/kg
mit Beatmung 48,8 mg/kg.

Es dürfte daher zweckmäßig sein, alle Auswertungen auch an Meerschweinchen unter Beatmung auszuführen. F. und O. Dybing[14] haben dies in der oben erwähnten Arbeit getan und dabei erstaunlich gleichmäßige Ergebnisse erzielt mit mittleren Fehlern von weniger als 2%.

Wenn man die Auswertung an Meerschweinchen unter Beatmung ausführt, dann werden auch die von Miya und Holck[25] neuerdings aus gleichem Grunde erhobenen Bedenken entfallen.

Auch diese Autoren beschrieben bei Auswertungen unter kurzfristig wiederholten intravenösen Einzelinjektionen (25—38 Injektionen innerhalb von 125 bis 180 min) bis zum Tode der Tiere, daß bei solchen langfristigen Versuchen der Endpunkt wegen der Atmungsstörungen schwer zu bestimmen sei. Sie empfehlen daher die Katze statt des Meerschweinchens für die Auswertungen.

Wir stimmen dieser Folgerung nicht zu, sondern betonen, daß die Auswertung am Meerschweinchen bei Beachtung gewisser Vorschriften (kurze Infusionszeiten von 20—30 min und künstliche Atmung) ebenso zuverlässig sind, wie die Auswertung an der Katze, die man mindestens mit einer Infusionszeit von 50 min zur Auswertung verwenden müßte.

Schlußfolgerung.

Bei der Digitalisauswertung am Meerschweinchen muß bei langsamer Infusionsgeschwindigkeit ein Verlust durch Elimination und die Möglichkeit der Atmungslähmung beachtet werden. Die Eliminationsfähigkeit ist größer als die der Katze und entspricht etwa der des Kaninchens. Eine Übertitration bei zu schneller Infusion infolge geringer Bindungs- und

Wirkungsgeschwindigkeit wie an Katzen ist nicht zu befürchten. Die Frage der Atmungslähmung durch einige Glykoside und insbesondere durch Genine wird erörtert.

Es wird empfohlen, die Auswertung unter künstlicher Beatmung mit einer solchen Dosierungsgeschwindigkeit auszuführen, daß der Tod innerhalb von 15—30 min erfolgt.

Literatur.

[1] Straub, W. u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 1 (1940). — Reiser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195**, 199 (1940). — [2] Hildebrandt, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 662 (1947). — [3] Goldberg: Acta phys. scand. **4**, 178 (1942). — [4] Lendle, L.: in Heffter-Heubner-Hdb. exp. Pharm. E. Werk I, S. 52. — [5] Hildebrandt, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 568 (1942). — [6] Straub, W. u. Mitarb.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **198**, 189 (1941); **199**, 427 (1942). — [7] Kinukawa, Tohoku: J. of exper. Med. **22**, 314 (1933). — [8] Yernaux, zit. nach Kinukawa. — [9] Heubner u. v. Nyary: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 60 (1935). — [10] Lendle u. Oldenburg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 243 (1950). — [11] Hoffmann, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 221 (1950). — [12] de lind van Wijngaarden: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **112**, 252 (1926); **113**, 51 (1926). — [13] Rothlin: Pharmaceut. Act. Helv. **22**, 418 (1947). — [14] Dybing, Fr. u. O.: Acta Pharm. et Tox. (Kopenhg.) III, 189 (1947). — [15] Herre: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 716 (1937). — [16] Östling, G.: Acta Pharm. et Tox. (Kopenhg.) **3**, 275 (1947). [17] Mehnert: — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **184**, 181 (1937). — [18] Fromherz, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **161**, 266 (1931). — [19] Walther: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **195** 709 (1940). — [20] Neumann W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201** 468 (1943). — [21] Lendle L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**, 392 (1933); **180**, 518 (1936); **182**, 72 (1936). — [22] Santesson u. Strindberg: Skand. Arch. Phys. **35**, 51 (1918). — [23] Lendle, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 493 (1940). — [24] Wollenberg, A.: J. of Pharmacol. **91**, 39 (1947). — [25] Miya, T. S., u. H. G. Holck: J. Amer. pharmaceut. Assoc. **38**, 64 (1949); (zit. Ber. Physiol. **138**, 1949).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 386—404 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Chronaxiemetrische Untersuchungen der Erregbarkeitsverhältnisse am isolierten Ventrikel des Frosches unter Digitalis und anderen Muskelgiften.

Von
Günther Wendhut.

(Eingegangen am 5. August 1950.)

Die Ermittlung der Chronaxie gilt in der Elektrophysiologie als wertvolle Methode zur Festlegung der Erregbarkeitsverhältnisse. Die exakte Definition dieses Begriffes stammt von Gildemeister, der zuerst die Nutzzeit eines Reizstromes als kennzeichnend für die Erregbarkeit neben der Stromstärke eines zeitlos fließenden Stromes (Rheobase) festlegte. Für die Messung dieser Nutzzeit verwendete Gildemeister das Helmholtz-Pendel, während sich später, besonders auch für klinische Untersuchungen, eine vereinfachte Methode nach Lapicque einbürgerte, die das Prinzip der Kondensatorentladungen benutzte.

Mit diesem chronaxiemetrischen Verfahren ist die Erregbarkeit verschiedener nervöser und muskulärer Organe auch vielfach unter pharmakologischer Einwirkung geprüft worden (eine Zusammenfassung der Literatur findet sich bei Quincke und Stein)[1]. Verhältnismäßig wenig scheint dabei die Chronaxie des Herzmuskels beachtet zu sein. Bei Schaefer[2] und Quincke und Stein[1] findet man die gewonnenen Erfahrungen zusammengestellt. Selbst für das wichtige Herzgift Digitalis werden dort nur vereinzelte Arbeiten zitiert*, insbesondere vermißt man bei allen eine zahlenmäßige Belegung der Beobachtungen.

Die in älteren Arbeiten mit Hilfe von Einzelinduktionstromstößen vorgenommenen Erregbarkeitsmessungen ergaben für Digitalis eine Verminderung der Erregbarkeit des Herzens (Cushny[3] und Brandenburg[4]). Junkmann[5], der in zwei größeren Arbeiten den Einfluß von Digitalis gleichzeitig auf die Kontraktilität und die Erregbarkeit untersuchte, fand mit dieser Methode kaum eine Veränderung der absoluten Erregbarkeit, während zur gleichen Zeit aber schon eine starke Veränderung der Kontraktilität bestand. Von Schellong[6] wurde dagegen am Herzstreifenpräparat eine starke Verminderung der Erregbarkeit mit einer Konzentration von 1 : 200 000 Digalen in einer neueren Arbeit beschrieben. Die mit der obengenannten Methoden durchgeführten Erregbarkeitsmessungen sind aber nach unserer heutigen Anschauung nicht in der Lage, uns ein richtiges Bild über die wahren Erregbarkeitsverhältnisse am Reizobjekt zu geben, sondern wir müssen, wie es Schaefer[2] fordert, Erregbarkeitsmessungen in Rheobasen- und Chronaxiemessungen unterteilen.

Von Lapicque[8] ist die Erregbarkeitsveränderung unter Strophanthin zum erstenmal chronaxiemetrisch untersucht worden. Er fand eine Verlängerung der Chronaxie vor dem Eintritt einer vollen Lähmung. Dabei ist bemerkenswert, daß

* So Rijlandt[7] bei Schaefer.

eine größere Chronaxieverlängerung an den Herzteilen gefunden wurde, die schon normalerweise eine längere Chronaxie haben (wie z. B. der A-V-Trichter). Auch von Werz[9] hat im Laufe einer toxischen Strophanthineinwirkung eine Verlängerung der Chronaxie gefunden und diesen Befund dazu benutzt, um die Natur des natürlichen Leitungsreizes zu klären. Aus den von Werzschen Untersuchungen geht, da leider kein Zahlenmaterial in seinen Veröffentlichungen vorliegt, nicht hervor, ob eine therapeutische Strophanthinwirkung gleiche chronaxiemetrische Veränderungen hervorruft.

Es kam in unseren Versuchen vor allem darauf an, die Veränderungen der Chronaxie und Rheobase während einer therapeutischen und toxischen Strophanthineinwirkung zu erfassen, um sie später mit der Wirkung von Saponinen zu vergleichen. In der Literatur lagen darüber noch gar keine Angaben vor, ob auch Saponine einen Einfluß auf die Erregbarkeitsverhältnisse besitzen.

Die Fragestellung dehnte sich dann noch auf weitere herzwirksame Stoffe aus, wie z. B. auf das Kalzium, weil die Digitaliswirkung gelegentlich nach Loewi[10] im Sinne einer Sensibilisierung für Ca gedeutet wird. Auch wurden einige Untersuchungen mit Atropin und Digitalis angeschlossen, um die Frage weiter zu klären, ob Digitalis eine Vaguswirkung am Herzen auslöst. Zum Schlusse ergab sich noch die Notwendigkeit, die Wirkung von Novocain und Urethan zu prüfen, weil sich möglicherweise daraus einige Deutungsmöglichkeiten für die Strophanthinversuche gewinnen ließen. Über die in der Literatur vorliegenden Erfahrungen mit solchen Stoffen wird erst in den jeweiligen Abschnitten berichtet.

Methodik.

Bis auf wenige Ausnahmen sind in den älteren Arbeiten zur Bestimmung der Chronaxie Kondensatorentladungen verwandt worden, wie sie von Lapicque eingeführt worden waren. Ich habe meine Untersuchungen mit einem neuen Reizgerät, dem „*Megatest*“ von Kroebel[11] durchgeführt. Dieses Gerät liefert für die Reizung nach Stromstärke und Impulsdauer genau zu regulierende Rechteckstromstöße. Für die Feststellung der Rheobase ist es möglich, den dem Gerät entnommenen Gleichstrom auf 0,01 mA genau abzulesen, während die Chronaxie direkt auf 0,1 Millisekunden eingestellt werden kann. Auf diese Weise ist es möglich, schnell hintereinander Chronaxiemessungen durchzuführen, so daß man auch vorübergehende Chronaxieänderungen erfassen kann. Die Untersuchungen wurden an isolierten, durch eine zweite Stanniussche Ligatur stillgelegten Ventrikeln des Froschherzens vorgenommen. Die Kontraktionen wurden durch einen Schreibhebel auf ein Rußkymographion geschrieben, so daß Kontraktilität und Erregbarkeit miteinander verglichen werden konnten. Der Ventrikel wurde fortlaufend durch einen Induktionsapparat über zwei Elektroden mit einer Frequenz von ca. 16 min mit leicht überschwelligen Stromstößen angetrieben. Die Öffnungszuckung war hierbei ausgeblendet, so daß nur die Schließung zu einer Kontraktion führte. Die Verwendung des „Megatests“ zum Antrieb des Ventrikels hätte bei jeder Messung zu Antriebspausen geführt; über die dadurch möglichen Fehlmessungen wird im allgemeinen Teil der Ergebnisse berichtet. Über die gleichen Elektroden wurde auch der vom „Megatest“ kommende Prüfreiz geschickt, immer in einem genau eingehaltenen gleichen Abstand vom letzten Antriebsreiz. Zur Zeit des Prüfreizes

war die Verbindung zum Induktorium unterbrochen, so daß kein Strom auf diese Weise verlorengehen konnte.

Als indifferente Elektrode verwandten wir einen Platindraht, der in die RINGER-Lösung in der STRAUB-Kanüle hineingesteckt war. Als differente Elektrode benutzte ich ein gebogenes auf der einen Seite spitz ausgezogenes Glasröhrchen, das auf der anderen Seite durch einen Korken verschlossen wurde, durch den ein Platindraht gesteckt war. Das Röhrchen wurde bei jedem Versuch mit RINGER gefüllt, und in das spitz ausgezogene Ende wurde ein Wollfaden gesteckt. Durch eine dadurch mögliche senkrechte Anlehnung an die Herzoberfläche gelang es mir, die Berührungsfläche der differenten Elektrode möglichst klein und konstant zu halten. Da ich mir auch außerdem immer eine Stelle des Ventrikels aussuchte, die sich bei der Kontraktion fast nicht veränderte und sehr weit oben lag, konnte ich ziemlich sicher sein, daß nur geringfügige Schwankungen der Rheobase durch eine unterschiedliche Elektrodenberührung eintreten würden.

Rheobase und Chronaxie wurden in einer Vorperiode solange bestimmt, bis die Werte eine zufriedenstellende Konstanz zeigten, dann wurde mit der Einwirkung der verschiedenen Substanzen begonnen. Die hervorgerufenen Veränderungen konnten sowohl am Kontraktionsbild, als auch an der Rheobase und Chronaxie beobachtet werden. Vor jeder Chronaxiemessung wurde immer die Rheobase neu bestimmt und davon ausgehend dann die neue Chronaxie gesucht. Stoffe mit reversibler Wirkung wurden nach bestimmter Einwirkungszeit wieder ausgewaschen. Die Untersuchungen mit Digitalis erstreckten sich immer bis zur Kontraktur.

I. Allgemeine Ergebnisse.

Ein Überblick über die Rheobasen und Chronaxiewerte normaler Ventrikel ergab bei 130 Messungen an 25 verschiedenen Ventrikeln eine Streuung der Chronaxiewerte zwischen 2—7 Sigmen. Eine gruppenweise Zusammenstellung in Prozenten der gesamten Messungen ergibt in der nebenstehenden Tabelle, daß die meisten Werte zwischen 3 und 4 Sigmen liegen. Als Durchschnittswert für den Froschventrikel sind von QUINCKE und STEIN[1] 3 Sigmen angegeben, damit stimmen unsere Werte recht gut überein.

Chronaxie in msec	Zahl der Messungen (in%)
2—3	22,3%
3—4	40 %
4—5	27,7%
5—7	10 %

Die Werte für die Rheobase schwanken zwischen 0,04 und 0,2 mA bei einer Häufung um 0,1 mA. Aus der Literatur waren keine Durchschnittswerte zu entnehmen, so daß ein Vergleich nicht möglich ist.

In unseren Versuchen konnten wir ebenfalls die von SCHAEFER[2] und QUINCKE und STEIN[1] beschriebenen Chronaxieveränderungen bei Änderung der Durchströmungsrichtung feststellen. Lag die Kathode außen am Ventrikel, waren die Chronaxiewerte um mehr als die Hälfte kleiner, als wenn die Kathode in die STRAUB-Kanüle gesteckt war, wie aus der nebenstehenden Tabelle ersichtlich ist. Dieses Verhalten wird mit der längeren Chronaxie des Reizleitungssystems erklärt (SCHAEFER[2]), das man in der Hauptsache reizt, wenn man die Kathode innen liegen hat.

Kathodenlage	Rheobase	Chronaxie
außen	0,12 mA	2,5 msec
	0,12 „	2,5 „
innen	0,1 „	7,5 „
	0,1 „	7,5 „

Ferner ließ sich eine Änderung von Rheobase und Chronaxie hervorrufen, wenn man den Antriebsreiz für 5—10 min abstellte, so daß der Ventrikel aufhörte zu schlagen.

Nebenstehend ist die Veränderung nach einer Pause von 10 min zu sehen. Nach dem Einsetzen des Antriebsreizes ging die Veränderung wieder auf den Ausgangswert zurück. Vielleicht kann man eine ungenügende O_2-Versorgung für diese Veränderung verantwortlich machen, da der Austausch der Ringer-Lösung wegfällt. Am Kontraktionsbild wurde ebenfalls eine Verminderung der Höhen festgestellt, die nach dem Einsetzen der rhythmischen Reizung schnell wieder verschwand.

Rheobase	Chronaxie
0,1 mA	6 m/sec
0,1 „	6 „
10 min Pause	
0,08 „	8 „
Dauerreizung	
0,08 „	6,5 „
0,08 „	5,7 „

Ebenfalls konnte eine Chronaxieänderung durch den Wechsel der Ringer-Lösung hervorgerufen werden, insbesondere wenn das Herz mit der alten Lösung schon längere Zeit gearbeitet hatte (über 1 Std). Es wurde in solchen Fällen ein Sprung der Rheobase nach oben und eine geringe Verkürzung der Chronaxie beobachtet. Dies ist zur kritischen Bewertung von Versuchen wichtig, in denen eine Substanz ausgewaschen wird oder in denen ein Ringer-Wechsel vorgenommen wurde. Vielleicht ließe sich diese Erregbarkeitsänderung durch einen Verlust von in den Membranen angereicherten lipoiden Substanzen erklären (im Sinne Clarks[12], der auf solche Weise die Entstehung einer Hypodynamie bei der Durchspülung eines Herzens erklärt), wobei die Auflockerung der Membranen dann die Ursache für die Chronaxieverkürzung sein könnte.

In längeren Versuchen zeigten Rheobase und Chronaxie manchmal Schwankungen, deren Ursache nicht näher geklärt werden konnte. In Kontrollversuchen, die über mehrere Stunden (6—8) liefen, konnte keine eindeutige Änderung von Rheobase und Chronaxie festgestellt werden. Manchmal blieben beide Werte unverändert, manchmal wurde die Rheobase aber auch etwas kleiner und die Chronaxie länger. Diese Änderungen waren aber immer so unwesentlich, daß sie niemals eine Substanzwirkung vortäuschen oder verdecken konnten.

II. Untersuchungen mit Kalzium.

Zur besseren Sichtbarmachung einer therapeutischen Strophanthinwirkung ließen wir in einigen Versuchen Strophanthin auf ein Herz

wirken, dessen Muskelleistung durch eine kalziumarme RINGER-Lösung reduziert war. Vorher führten wir einige Messungen im kalziumarmen Milieu und bei Kalziumvermehrung durch.

A. Erregbarkeitsmessungen unter kalziumarmer RINGER-*Lösung.*

Die kalziumarme RINGER-Lösung enthielt $^1/_3$—$^1/_4$ des normalen Kalzium-chlorid-gehaltes (von 0,2 g $CaCl_2$/1000 cm^3); sie wurde nach einer Einwirkungszeit von 5—20 min wieder mit einer normalen Lösung ausgetauscht. Die Reversibilität der Erregbarkeitsveränderungen wurde durch Messung geprüft.

Tabelle 1

Versuchsnummer:	1		2		3		4		5	
Rheobase in mA Chronaxie in msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec
A. Vorperiode RINGER . .	0,06	6	0,06	3,5	0,02	1,2	0,2	2,5	0,07	4
	0,06	6	0,06	3,5	0,02	1,3	0,26	2,5	0,07	4,2
					0,02	1,2	0,26	2,5	0,07	4
Reduzierung des Kalziums auf	$^1/_3$		$^1/_3$		$^1/_3$		$^1/_4$		$^1/_4$	
Einwirkungszeit	10 min		8 min		25 min		5 min		20 min	
B. Kalziumarmer RINGER	0,06	6	0,06	4	0,01	2	0,28	2	0,08	3,4
	0,06	5	0,06	3,6	0,01	2	0,28	2	0,08	3,5
			0,06	3					0,08	3,4
C. Nachperiode RINGER	0,06	6			0,04	3	0,3	2,5	0,09	4
	0,06	6			0,04	2,6	0,28	3	0,08	3,8
					0,04	3			0,07	4

Die Ergebnisse unter der Einwirkung von kalziumarmer RINGER-lösung sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Aus keinem der 5 Versuche ist eine eindeutige Chronaxieänderung zu entnehmen; man findet sowohl Verkürzungen als auch Verlängerungen. Ebenso zeigt die Rheobase keine auffallende Veränderung. Vielleicht läßt sich eine Tendenz der Chronaxie zur Verkürzung herauslesen (Versuch 1, 4, 5) wie es für eine kalziumarme Lösung auch von FREDERICQ[13] beschrieben wurde. Die relativ kurze Einwirkungszeit kann das Fehlen einer größeren Veränderung nicht erklären, zumal von QUINCKE und STEIN[1] eine allmähliche Anpassung des Herzens an ein kalziumarmes Milieu beschrieben wurde.

Die Höhe der Kontraktionen wurde in allen Versuchen schlagartig auf $^1/_2$—$^1/_3$ reduziert. Diese unterschiedliche Beeinflussung von Kontraktilität und Erregbarkeit ist auffallend. Eine befriedigende Erklärung

dafür ist nicht möglich. Jedenfalls hat die im normalen RINGER vorhandene Kalziumkonzentration nur einen unwesentlichen Einfluß auf die Rheobase und Chronaxie, dagegen bekanntlich einen starken auf die Kontraktilität.

Man kann demnach nicht einfach die Chronaxie als einen Spiegel für den Zustand der anderen an das Herzmuskelelement gebundenen Eigenschaften auffassen (v. WERZ[14]).

B. Erregbarkeitsmessungen bei vermehrtem Kalziumgehalt.

Die Untersuchungen wurden mit normalem und kalziumarmen RINGER durchgeführt. Von einer 1%igen Kalziumchloridlösung wurden dem Inhalt der STRAUB-Kanüle jeweils so viele Tropfen zugesetzt, bis das Kalziumdefizit der kalziumarmen Lösung gedeckt war und schließlich bei allen Versuchen eine toxische Kalziumwirkung erzielt wurde.

Auch diesmal wurde die Reversibilität der Erregbarkeitsveränderungen durch das Auswaschen des Kalziums geprüft (vgl. Tab. 2).

In Versuch 1 und 2 wurde die Kalziumchloridlösung einer kalziumarmen RINGER-Lösung zugesetzt, in den anderen Versuchen einer normalen RINGER-Lösung. Nach den angegebenen Einwirkungszeiten erfolgte jedesmal die Auswaschung.

In allen Versuchen sieht man eine deutliche Chronaxieverlängerung mit einer Tendenz der Rheobase zu steigen. Diese Veränderungen sind nach dem Auswaschen reversibel, nach einiger Zeit werden fast immer die Ausgangswerte erreicht. Unsere Ergebnisse stimmen mit den Angaben von FREDERICQ[13] und QUINCKE und STEIN[1] überein, die ebenfalls eine Chronaxieverlängerung bei Kalziumvermehrung beschrieben. In Versuch 1 und 2 wurde mit Kalzium-chlorid-konzentrationen von 1/2000 die alte Kontraktionshöhe wieder hergestellt. Bis zu dieser Zeit wurde keine Verlängerung der Chronaxie gefunden, erst als ein Kalziumüberschuß vorlag, trat eine deutliche Chronaxieverlängerung verbunden mit einer Kontrakturneigung des Herzens auf. Bei einer Kalziumvermehrung über die Norm finden wir also eine gleichzeitige Beeinflussung von Kontraktilität und Erregbarkeit, was wir ja bei einer Kalziumverminderung vermißten. Möglicherweise ist die Ursache dieser doppelten Veränderung in der Membranwirkung des Kalziums zu suchen.

III. Erregbarkeitsmessungen unter Strophanthin und anderen Glykosiden.

Zur Verwendung kamen K-Strophanthin (Boehringer), Strophosid und Digitoxin. Alle Glykoside wurden in steigenden Konzentrationen geprüft, indem abgemessene Mengen verschiedener Konzentrationen zum Kanüleninhalt gegeben wurden.

Tabelle 2.

Versuchsnummer:	1	2	3	4	5	6	7
Reobase in mA Chronaxe in msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec
A. Vorperiode RINGER	0,08 3,5 0,07 3,4 0,07 3,4	0,06 2,5 0,06 2,5 0,06 3	0,08 3,2 0,08 3	0,08 3 0,07 3 0,07 3	0,09 3 0,09 3	0,14 3 0,14 3	0,13 5 0,14 5 0,14 5
Zugegebene Kalziumchlorid-konzentration	$^1/_{400}$	$^1/_{300}$	$^1/_{300}$	$^1/_{500}$	$^1/_{500}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$
Zeit der Kalziumeinwirkung . .	30 min	40 min	14 min	14 min	10 min	12 min	5 min
B. Kalziumeinwirkung	0,07 3 0,07 3,3 0,07 3,2 × 0,07 5,6 0,07 4,5 0,07 6 0,07 7,5 0,07 8,3	0,07 4 0,07 4,8 0,07 4 × 0,07 6,5 0,07 6 0,07 6 0,07 6 0,07 8 0,07 7	0,08 3,5 0,1 6,5 0,16 5,5 0,2 7	0,07 4,6 0,08 4,5 0,08 6 0,08 6	0,1 4 0,1 5,5 0,1 5,5	0,18 4,5 0,18 5 0,21 5,8 0,21 5,6	0,08 20 0,15 6
C. Nachperiode RINGER	0,07 2,5 0,07 4 0,06 3,4	0,07 3,5 0,07 3,3 0,07 8,5	0,1 3,5	0,07 3 0,07 3,5 0,07 3,5	0,09 3 0,08 3,1 0,08 3	0,14 3,5 0,14 2,5 0,12 2,8	0,13 6 0,13 6

× Hier Ausgleich des Kalziumdefizits (in Versuch 1 und 2).

Versuchsnummer:	1		2		3		4		5		6		7	
Reobase in mA Chronaxie in msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec
A. Vorperiode RINGER	0,08	5	0,17	4	0,1	3,8	0,15	6	0,07	17	0,14	3,8	0,12	4
	0,08	4	0,17	4	0,1	4	0,16	6	0,07	16	0,14	3,8	0,12	4
B. Kalziumarmer RINGER ($^1/_3$)	0,08	4	0,12	3,5	0,1	3,8	0,18	5	0,07	12	0,14	3,8	0,12	4
	0,06	4,5	0,1	3,8	0,1	3,8	0,18	5	0,07	12	0,14	3,8	0,12	4
	0,06	4,5	0,1	3					0,07	12				
Glykosid:	Strophanthin				Strophanthin				Strophosid				Digitoxin	
Endkonzentration	$^1/_{200\,000}$		$^1/_{200\,000}$		$^1/_{200\,000}$		$^1/_{500\,000}$		$^1/_{1\,000\,000}$		$^1/_{20\,000}$		$^1/_{100\,000}$	
C. Glykosideinwirkung	0,05	5	0,06	5	0,09	4	0,18	3,5	0,07	10,0	0,13	3,5	0,14	3
	0,05	3,5	0,06	4,8	0,09	3,8	0,12	6	0,07	8	0,13	3,5	0,14	3
	0,04	4,5	0,06	5	—0—		0,13	6,3	0,07	8	0,13	3,5	0,13	3
	0,04	3,5	0,07	5,3	0,08	3,5	—0—		0,07	7,8	0,13	3	0,13	3
	—0—		—0—		0,07	3,6	0,13	9,5	0,07	7,3	0,14	3	0,12	3
	0,04	5,3	0,07	5,6	0,05	5,8	0,13	10	0,06	5,5	0,14	3	0,13	3
	0,04	6	0,05	6	0,05	7	0,14	9	0,06	5,5	—0—		0,14	3
	0,03	5,5	0,06	5,5	0,05	7	+		0,06	5,5	0,11	4	0,15	3,2
	0,02	6,5	0,05	7,5	0,05	7			0,06	5	0,11	4	0,15	3
	0,02	6,8	0,05	6,5			(50)		0,06	4,5	0,1	4,8	0,15	3
	0,02	6,5	+		+				—0—		0,09	5,5	0,13	3
	+				(22)						0,08	6,5	—0—	
	(38)		(29)								0,07	7	0,12	3
											0,06	7	0,11	3
											+		0,1	6,5
											(60)		0,1	11,5
													0,1	14
													0,1	14
													+	
													(34)	

—0— bedeutet Ende der therapeutischen Wirkung.
+ bedeutet Kontraktur nach (...) min der Einwirkung.

A. Versuche mit Glykosiden in kalziumarmer RINGER-*Lösung.*

Nachdem unter Strophanthin an den durch Kalziummangel erniedrigten Hubhöhen ein therapeutischer Effekt zu sehen war, wurde noch so viel Strophanthin verabfolgt, daß es schließlich zu einer Kontraktur kam.

In Spalte C der waagerechten Spalten der Tab. 3 ist das Ende der therapeutischen Strophanthinwirkung immer mit einem Kreis gekennzeichnet, von da ab war das typische Bild der Digitalisvergiftung zu sehen, d. h. Anstieg der Fußpunkte, Abfall der Hubhöhen und Kontraktur.

Die Chronaxie verlängert sich während der therapeutischen Phase nur in einigen Versuchen ganz wenig, meistens bleibt sie aber gleich oder zeigt sogar eine Verkürzung. Besonders deutlich ist diese Verkürzung in den Versuchen mit Digitoxin und Strophosid zu sehen, denn hier konnte eine größere Anzahl von Chronaxiemessungen während einer länger dauernden therapeutischen Phase durchgeführt werden. Die Rheobase läßt in diesem Stadium keine eindeutige Änderungsrichtung erkennen.

Die 3 Stoffe können also die durch einen Kalziummangel geschädigte Muskelleistung wieder bessern, ohne gleichzeitig eine Verlängerung der Chronaxie und eine Veränderung der Rheobase zu setzen. Die *Chronaxie zeigt vielmehr in der therapeutischen Phase eine Neigung zur Verkürzung. Erst in der toxischen Phase tritt bei Abnahme der Hubhöhen und Anstieg der Fußpunkte eine Verlängerung der Chronaxie verbunden mit einem Absinken der Rheobase ein*.*

Ein Vergleich mit Kalzium zeigt, daß beide Stoffe die durch Kalziummangel geschädigte Muskelleistung bessern können, ohne eine Chronaxieverlängerung zu bewirken, diese tritt bei beiden erst in toxischen Konzentrationen auf, mit dem Unterschied, daß beim Kalzium die Rheobase ansteigt, während sie beim Strophanthin regelmäßig absinkt.

B. Versuche mit Glykosiden in normalem RINGER.

Eine therapeutische Strophanthinwirkung war nur in den Versuchen 1, 2 und 5 zu sehen, da diese Herzen durch eine lange Versuchsdauer eine leichte Schädigung aufwiesen. In allen 3 Versuchen wurde während dieser

* Bei der Bewertung dieser Ergebnisse müssen wir die Möglichkeit ausschließen, daß die Veränderungen der Rheobase und Chronaxie durch die durch Strophanthin hervorgerufene Kontrakturneigung verursacht sind. In Kontrollversuchen, bei denen das Herz bei längerer Versuchsdauer eine zunehmende diastolische Dehnung zeigte, wurde nur eine ganz geringe Chronaxieverkürzung gesehen, bei unveränderter Rheobase. Bei einer Mehrdehnung des Herzens durch einen vergrößerten Kanüleninhalt (0,5—3 cm^3) war dagegen nur ein Anstieg der Rheobase zu sehen ohne eine Veränderung der Chronaxie. Wenn die Veränderungen bei einer Überdehnung nur so gering waren, kann man mit Recht als Folge einer mangelnden Dehnungsmöglichkeit wohl auch keine auffallenden Erregbarkeitsänderungen erwarten.

Tabelle 4.

Versuchsnummer:	1	2	3	4	5	6	7
Rheobase in mA Chronaxie in msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec
A. Vorperiode RINGER	0,07 3,5 0,07 3,5 0,07 3,2	0,09 3 0,08 3,1 0,08 3	0,18 2,2 0,16 2,5	0,1 7 0,1 7,2 0,1 7,6	0,04 6 0,04 5,8 0,04 6	0,1 5 0,1 5 0,1 5	0,1 6,2 0,13 5 0,12 6,2
Strophanthinendkonzentration	$^1/_{170\,000}$	$^1/_{170\,000}$	$^1/_{200\,000}$	$^1/_{200\,000}$	$^1/_{100\,000}$	$^1/_{200\,000}$	$^1/_{200\,000}$
B. Strophanthineinwirkung	0,06 3,5 0,06 2,8 0,06 2,5 0,05 3 0,05 3 0,05 2,5 —0 0,04 3,5 0,03 3,5 0,02 4,3 0,02 4,5 0,02 5,2 + (54)	0,08 3 0,08 3 0,08 2,5 0,08 2,8 0,08 2,8 —0— 0,07 3 0,04 3 0,03 3,8 0,03 4 0,03 3,8 0,03 3,8 + (42)	0,13 3,5 0,07 4 0,04>20 + (15)	0,1 8,5 0,09 7,8 0,06 15 0,06>20 + (15)	0,04 6 0,04 6 0,04 6 —0— 0,04 5,5 0,04 4,5 0,02 5 + (17)	0,1 4 0,09 5,5 0,09 5,5 0,07 6,2 + (11)	0,1 9 0,1 8 0,1 7 0,1 6 0,1 5 + (10)

—0— Ende der therapeutischen Wirkung. + Kontraktur nach (. . .) min der Einwirkung.

Zeit keine Verlängerung der Chronaxie gefunden, sondern diese trat erst mit Ausnahme von Versuch 5 in der toxischen Phase ein. In den anderen Versuchen wählten wir die Strophanthinkonzentration so hoch, daß gleich eine toxische Wirkung gesehen wurde, damit ging dann auch eine Verlängerung der Chronaxie und ein Absinken der Rheobase einher, mit Ausnahme des letzten Versuches (7), bei dem bei gleichbleibender Rheobase eine Verkürzung der Chronaxie gefunden wurde.

Die Ergebnisse der Tab. 4 stimmen mit den Ergebnissen der vorhergehenden Tabelle im wesentlichen überein mit Ausnahme der Versuche 5 und 7, für die wir keine richtige Erklärung geben können.

C. Versuche mit Strophosid und Atropin:

Einer Gruppe von Herzen, die wir durch eine kalziumarme RINGER-Lösung schädigten, wurde vor dem Strophosidzusatz Atropin zugesetzt. Nun wird aber dem Atropin selbst eine chronaxieverlängernde Wirkung zugeschrieben (SCHAEFER[2] und QUINCKE und STEIN[1]), so daß wir gezwungen waren, einige Chronaxiemessungen unter reiner Atropineinwirkung vorzunehmen (Tab. 5).

Die Wirkung des Atropins auf die Chronaxie ist nicht einheitlich. In 2 Versuchen ist eine Verlängerung zu sehen, während in 1 Versuch die Chronaxie gleichbleibt und im letzten sich sogar verkürzt. Die Rheobase bleibt in allen Versuchen fast unverändert. Die Chronaxieverlängerung überschreitet aber in keinem Fall die normale Chronaxie des Herzens, so daß eine Verschleierung der Strophosidwirkung nicht möglich ist. Merkwürdig war, daß in 3 von 4 Fällen die durch den Kalziummangel geschädigten Kontraktionen durch das Atropin etwas gebessert wurden; nur bei dem Fall, wo eine Chronaxieverkürzung vorlag, war dies nicht zu sehen.

Aus den übrigen Ergebnissen sehen wir wieder, daß in der therapeutischen Phase Strophosid keine Chronaxieverlängerung herbeiführt, wir finden sie erst wieder in der toxischen Phase, jetzt aber im Unterschied zu den beiden anderen Tabellen (3 u. 4) ohne ein starkes Absinken der Rheobase. Ob an diesem Verhalten der Rheobase das Atropin schuld ist, können wir nicht entscheiden. Am Kontraktionsbild war jedenfalls kein Unterschied gegenüber den anderen Versuchen zu sehen.

Aus den vorstehenden Ergebnissen läßt sich also entnehmen, daß Atropin den Einfluß von Strophanthin auf die Chronaxie und Kontraktilität nicht verändern oder verhindern kann; demnach kann man die Wirkung des Strophanthins nicht als eine Vaguswirkung deuten. Da wir bei einer Vagusreizung umgekehrt eine Verkürzung der Chronaxie sehen (FIELD und BRÜCKE[15]), kann man einen Vaguseinfluß für die toxische Strophanthinwirkung wohl auf jeden Fall ausschließen; ob die angedeutete Verkürzung der Chronaxie in der therapeutischen Phase einen Zusammenhang mit dem Vagus hat, ist nicht bewiesen.

Tabelle 5.

Versuchsnummer:	1		2		3		4	
Rheobase in mA Chronaxie in msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec
A. Vorperiode	0,16	3,2	0,02	4,3	0,05	2,5	0,04	4,2
Ringer	0,16	3,5	0,02	4,2	0,05	2,5	0,04	4,3
B. Kalziumarmer	0,18	2,8	0,02	3,5	0,05	2,5	0,04	4,3
Ringer ($^1/_4$)	0,16	2,5						
Atropin-Konzentration	$^1/_{2\,000\,000}$		$^1/_{1\,000\,000}$		$^1/_{2\,000\,000}$		$^1/_{2\,000\,000}$	
C. Atropin	0,16	3,5	0,02	4	0,05	2,5	0,05	2,8
	0,16	3,5	0,02	5	0,05	2,2	0,05	2,8
			0,02	4				
Strophosid-Endkonzentration	$^1/_{50\,000}$		$^1/_{10\,000}$		$^1/_{20\,000}$		$^1/_{50\,000}$	
D. Strophosid	0,16	2,9	0,02	3	0,03	3,5	0,04	3,8
	0,16	3	0,02	4	0,03	2,8	0,04	4
	0,16	3,2	0,02	4	0,03	2,8	0,04	4
	0,16	3,2	0,02	4	0,03	2,8	0,04	4
	0,16	2,5	0,02	5	0,03	3,2	0,04	4
	0,14	3,5	0,02	5	0,03	2,5	0,04	3,8
	0,15	3	0,02	4	0,03	2,5	—0—	
	0,16	3,2	0,02	3,8	—0—			
	—0—		0,02	3,5			0,04	3,3
	0,13	3,8	—0—		0,03	6,8	0,04	4
	0,15	2,5	0,02	4,8	0,03	4	0,04	3,8
	0,1	6	0,02	5	0,02	5	0,04	4
	0,11	4,8	0,02	4,5	0,03	7,8	0,03	5
	0,1	6	0,02	8	0,03	> 20	0,03	4,5
	0,09	6,8	0,03	8			0,03	10
	0,08	6,5	0,06	> 20	+		0,03	20
	0,08	6,5	+		(45)		+	
	+		(44)				(49)	
	(45)							

+ Kontraktur nach (...) min der Einwirkung

D. Besprechung der Strophanthinversuche:

Aus meinen Strophanthinversuchen läßt sich entnehmen, daß die Wirkung auf die Chronaxie des Herzens keine einheitliche ist. In der therapeutischen Phase sieht man eine Neigung zur Verkürzung bei meistens unveränderter Rheobase, in der toxischen Phase dagegen läßt sich eine eindeutige Verlängerung der Chronaxie bei kontinuierlich

absinkender Rheobase feststellen. Daß auch einmal eine Ausnahme möglich ist, wurde in Tab. 4 gezeigt.

In älteren Arbeiten fanden sich ebenfalls einige Beobachtungen über eine Erregbarkeitssteigerung nach Verabreichung von Digitalis (so bei Pletner[16], Wiener und Rihl[17], Tschistowitsch[18] und Schellong[6]). Daß Gifte überhaupt in verschiedenen Konzentrationen eine unterschiedliche Wirkung auf die Chronaxie haben können, ist schon von Quincke und Stein[1] beschrieben worden, für Digitalis und Strophanthin findet man aber keine derartige Veröffentlichung.

Zur Erklärung dieser Erregbarkeitsveränderung könnte man vielleicht die *Membranwirkung* von Strophanthin heranziehen. Für die Digitalisstoffe wird allgemein eine permeabilitätsvermindernde Wirkung angenommen (Oelssner)[19]. Speziell für G-Strophanthin hat Ruppert[20] eine Permeabilitätsverminderung von Konzentrationen ab $^1/_{3\,000\,000}$ beschrieben (geprüft durch das Farbstoffbindungsvermögen des Froschherzens). Daß Strophanthin keine Membranschädigung im Sinne einer Auflockerung (Permeabilitätserhöhung) hervorruft, geht auch aus Verletzungsstrommessungen hervor, die Gaca[21] an unserem Institut durchführte, dabei konnten mit Konzentrationen bis $^1/_{1000}$ K-Strophanthin am Sartorius des Frosches keine Verletzungsströme nachgewiesen werden. Wenn die Erregbarkeitsveränderung durch die Permeabilitätsverminderung hervorgerufen wäre, müßte also einer Permeabilitätsverminderung eine Chronaxieverlängerung parallel gehen. In der Literatur ließ sich aber kein Zusammenhang dieser Art finden. Diese Frage haben wir daher noch mit Stoffen, die ebenfalls eine Permeabilitätsverminderung hervorrufen, zu klären versucht (vgl. unten S. 399).

Für das *Verhalten der Rheobase* müßte man bei der angenommenen Permeabilitätsverminderung durch Strophanthin eigentlich auch eine Erhöhung der Reizschwelle erwarten, wir fanden jedoch in der Mehrzahl der Fälle im Gegenteil ein Absinken der Rheobase; dafür können wir noch keinen Grund angeben. Daß aber nun dieses Absinken der Rheobase für die Verlängerung der Chronaxie verantwortlich wäre, wie es fast scheint, wenn man den Versuch in Tab. 4 betrachtet, in dem bei gleichbleibender Rheobase die Chronaxie eine Verkürzung zeigt, ist wohl kaum möglich: Aus unseren Versuchen konnten wir sehen, daß die Chronaxie ein durchaus selbständiger Wert ist, der nicht so fest an die Rheobase gebunden ist, daß jede Rheobasenänderung die Chronaxie mit veränderte, denn wir konnten mehrfach gleiche Chronaxiewerte bei wechselnder Rheobase und wechselnde Chronaxiewerte bei gleicher Rheobase messen. Jedenfalls ist, wie auch schon von Achelis[22] und Laubender[23] festgestellt wurde, eine unabhängig voneinander verlaufende Änderung von Rheobase und Chronaxie möglich.

Fassen wir einmal vorgreifend alle Ergebnisse von Versuchen zusammen, die wir mit Substanzen durchführten, die eine Permeabilitätsverminderung hervorrufen, wie Kalzium, Novocain und Urethan, so finden wir bei keinem dieser Versuche ein Absinken der Rheobase wie beim Strophanthin, dagegen immer eine Verlängerung der Chronaxie. Die Rheobasenänderung durch die systolische Kontraktur erklären zu wollen, ist nicht möglich, da wir beim Kalzium ebenfalls eine systolische Kontraktur ohne gleichzeitiges Absinken der Rheobasenwerte beobachteten; wir müssen eben dafür noch andere unbekannte Schädigungen verantwortlich machen.

Die in den vorangegangenen Versuchen erhobenen Befunde zeigen, daß eine Chronaxieverlängerung in der therapeutischen Strophanthinphase nicht stattfindet; damit stehen unsere Ergebnisse in einem Widerspruch zu der Anschauung, daß die Verlangsamung der Erregungs-

ausbreitung eine Grundwirkung von Digitalis überhaupt ist, denn diese verlangsamte Erregungsausbreitung müßte mit einer verlängerten Chronaxie einhergehen, wenn man die ENGELMANNsche[24] Anschauung über die Zellkontakttheorie der Erregungsleitung zugrunde legt.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß die Befunde über eine andere Begleiterscheinung der verlangsamten Erregungsausbreitung, nämlich über die Anstiegszeit des monophasischen Aktionsstromes, ebenfalls nicht einheitlich sind. So fanden BRANDENBURG, HOFMANN[25] und SCHELLONG[6] nach Digitalis eine starke Verlängerung der Anstiegszeit des monoph. Aktionsstr. am Froschherzen, während später v. WERZ und DIECKHOFF[26] diese Befunde bei Kaltblütern nicht bestätigen konnten. Auch an Warmblütern beobachtete man erst eine Verlängerung dieser Anstiegszeit, nachdem schon andere Zeichen einer weitgehenden Digitalisvergiftung vorlagen (WEESE)[27]. Da wir in der therapeutischen Phase eine Neigung der Chronaxie zur Verkürzung sehen, müssen wir vielleicht sogar eine schnellere Erregungsausbreitung annehmen, eine verlangsamte Erregungsausbreitung tritt dann erst in der toxischen Phase ein*.

Versuche von OLDENBURG[28] an unserem Institut am Masseterpräparat der Ratte (HOTOVY)[29] scheinen unsere Befunde noch zu unterstützen, denn nach 10 mg/kg i.P. K-Strophanthin wurde bei einer Leistungssteigerung des Muskels gleichzeitig eine herabgesetzte Reizschwelle beobachtet (mit Rechteckstromstößen bei konstanter Impulsdauer gemessen).

IV. Erregbarkeitsmessungen unter Novocain und Urethan.

In den vorangegangenen Versuchen konnten wir durch eine pharmakologische Beeinflussung die Kontraktilität verändern, ohne die Chronaxie zu beeinflussen, wie beim Kalzium, oder aber beide gleichzeitig verändern, wie beim Strophanthin. Daß es aber auch eine Veränderung der Chronaxie ohne Beeinflussung der Kontraktilität gibt, konnten wir in den anschließenden Versuchen mit Novocain und Urethan zeigen. Beides sind Stoffe, von denen eine Wirkung auf die Permeabilität der Membranen bekannt ist (HOFMANN[30], FLECKENSTEIN[31]) und die uns auch aus diesem Grunde interessierten, weil wir hofften, über die oben angeschnittene Frage „Permeabilität und Chronaxie" weitere Aufschlüsse zu bekommen.

A. Versuche mit Novocain.

Lokalanästhetika besitzen auch lähmende Eigenschaften für die glatte und quergestreifte Muskulatur, insbesondere auch für autonom vegetativ innervierte Organe (LAUBENDER[32]). Nach unveröffentlichten Versuchen

* Unsere Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit neueren Befunden von TRAUTWEIN (Vortragsreferat vom Pharmakologenkongreß Bad Nauheim 1950), die uns erst nach Abschluß unserer Arbeit zugänglich waren. Er beobachtete an insuffizienten und chinidinvergifteten Hundeherzen nach einer therapeutischen Gabe von Strophanthin eine Beschleunigung der Erregungsausbreitung und eine Verkürzung des Erregungsanstiegs. Die Schwelle des ruhenden Faserteils gegenüber dem erregten Teil wird also durch Strophanthin herabgesetzt. TRAUTWEIN erklärt seine Beobachtungen mit einer Änderung der Polarisierbarkeit der Membranen durch Strophanthin.

von LENDLE wurde am künstlich gereizten Ventrikel des Frosches mit Konzentrationen von 1/500 und am spontan schlagenden Herzen mit Konzentrationen von 1/1000—1/5000 eine Lähmung erzielt. Die von uns beobachteten Chronaxieverlängerungen wurden dagegen schon mit Konzentrationen von 1/200 000—1/50 000 gesehen (Tab. 6).

Tabelle 6.

Versuchsnummer:	1	2	3	4	5
Rheobase in mA Chronaxie in msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec	mA msec
A. Vorperiode	0,04 4,5	0,1 4	0,06 4,9	0,18 3	0,14 3
RINGER	0,04 4,5	0,09 4,1	0,06 4,9	0,18 3	0,14 3
		0,09 4,5			
Novocainkonzentration	$^1/_{50\,000}$	$^1/_{50\,000}$	$^1/_{50\,000}$	$^1/_{20\,000}$	$^1/_{10\,000}$
Einwirkungszeit	15 min	18 min	43 min	15 min	18 min
B. Novocain	0,04 7	0,09 14	0,05 5	0,16 4	0,14 3,5
	0,04 7,8	0,09 17	0,05 7	0,16 5,4	0,14 5
	0,04 9,5	0,09 18	0,05 6	0,16 5,5	0,14 5,5
	0,04 10	0,09 17,5	0,05 6		0,14 6
			0,05 9		0,14 7
			0,05 7		0,14 7,5
			0,05 8		
C. Nachperiode	0,04 6	0,1 6	0,05 6,8	0,16 3,2	0,16 4,5
RINGER	0,04 5,5	0,1 5	0,05 6	0,16 3	0,16 4,3
	0,04 4,8	0,1 5	0,05 5,5	0,16 2,8	0,16 3,8
		0,1 5			0,16 3,8

Die angegebenen Novocainkonzentrationen sind die Endkonzentrationen eines jeden Versuches.

Wir fanden in allen Versuchen eine deutliche *Chronaxieverlängerung, ohne eine besondere Veränderung der Rheobase*, geringe Schwankungen ausgenommen. Diese Veränderung der Chronaxie wurde mit Konzentrationen erzielt, die *noch keinen Einfluß auf die Kontraktilität* hatten. Im allgemeinen wurden Novocainkonzentrationen bis 1/5000 ohne wesentliche Veränderung der Kontraktilität vertragen, eine vollständige Lähmung des Ventrikels wurde erst mit Konzentrationen von 1/200 erreicht, die Chronaxieverlängerung blieb dabei bis zum Schluß bestehen. Die Novocainwirkung war immer auswaschbar, und ebenso wurde jedesmal ein Rückgang der Chronaxieverlängerung bis fast auf den Ausgangswert gesehen.

Aus der Literatur sind Veränderungen dieser Art ebenfalls bekannt. Mit Cocainkonzentrationen von $^1/_{200\,000}$ wurden lediglich negativ bathmotrope Wirkungen am Herzen gesehen, erst mit $^1/_{100\,000}$ wurden auch Veränderungen an der

Kontraktilität beobachtet (Cousy)[33]. Am quergestreiften Muskel wurde eine Verlängerung der Stromstoßdauer nach Novocaineinwirkung gefunden (Spycher)[34] und Marinescou und Kreindler[35] beschrieben eine Verlängerung der Chronaxie am Muskel des Menschen nach Injektion einer 20%igen Novocainlösung. Diesen Ergebnissen am Muskel widersprechen die Befunde von Laubender[23] am motorischen und sensiblen Nerven, denn er beobachtete in allen Fällen von Konzentrationen ab $^1/_{30\,000}$ eine Steigerung der Rheobase und eine Verkürzung der Chronaxie.

Nach den Untersuchungen Fleckensteins[31] wirkt Novocain auf die Erregbarkeit und Kontraktilität des Muskels wahrscheinlich durch seine Membranabdichtende Eigenschaft. So konnte z. B. die Auflockerung der Membranen bei der Erregung und die damit verbundene Kaliumabgabe von einer 1% Novocainlösung fast vollkommen verhindert werden.

Unsere Versuche zeigen, daß die Membranwirkung des Novocains je nach verwandter Konzentration verschieden stark sein muß, so daß wir zunächst nur Veränderungen der Erregbarkeit und erst später auch Veränderungen der Kontraktilität sehen. Daß wir mit Konzentrationen ab $^1/_{200\,000}$ schon am Herzen so deutliche Chronaxieverlängerungen sehen, gewinnt insofern Bedeutung, als man heute bei der modernen intravenösen Novocaintherapie mit 10 cm³ einer 2—4%igen -Lösung wohl durchaus einmal solche Konzentrationen erreichen kann, die eine Chronaxieverlängerung und damit auch eine Verlangsamung der Erregungsausbreitung bewirken.

Im Gegensatz zum Strophanthin geht auch hier die Chronaxieverlängerung wie beim Kalzium ohne Herabsetzung der Rheobase einher.

B. Versuche mit Urethan:

Wenn die im letzten Kapitel beschriebene Novocainwirkung eine Folge der Membranwirkung dieses Stoffes ist, so sollte man annehmen, daß man mit Stoffen, die eine ähnliche Membranwirkung haben, auch ähnliche Ergebnisse bekommt.

Nun wird den Narkotica allgemein eine Membran-abdichtende Wirkung zugeschrieben (Seelich)[36], worauf sich ja auch die Permeabilitätstheorie der Narkose aufbaute. Deshalb prüften wir noch die Wirkung von Urethan auf die Chronaxie des Herzens, weil wir vermuteten, damit gleiche Ergebnisse wie mit Novocain zu erhalten.

Den Einfluß von Narkotica auf die Permeabilität der Membranen hat Hofmann[30] an der Froschhaut durch Kapazitätsmessungen quantitativ geprüft; dabei wurden drei Beeinflussungsarten herausgestellt. Sehr hohe Konzentrationen verursachen eine irreversible Permeabilitätssteigerung, mittlere Konzentrationen eine reversible Verminderung und niedrige Konzentrationen verursachen eine reversible Permeabilitätssteigerung. Für Äthylurethan lag z. B. die irreversibel permeabilitätssteigernde Konzentration bei einer 8,6%igen Lösung und die reversibel hemmende Konzentration bei einer 2,1%igen Lösung, eine reversibel narkotische Wirkung am Herzen wurde ebenfalls mit einer 2,3%igen Lösung gesehen und Junkmann[5] beobachtete am Froschherzen mit einer 1%igen Urethanlösung eine Verkürzung der Refraktärphase und eine Verminderung der Erregbarkeit. Die voll lähmende Dosis für den Ventrikel wurde von Lendle[37] mit 3% angegeben.

Wie wir aus der Tab. 7 sehen können, ist auch mit Urethan eine deutliche *Verlängerung der Chronaxie* zu erreichen, *ohne eine wesentliche Veränderung der Rheobase.* Diese Ergebnisse entsprechen damit den

Ergebnissen aus Tab. 6 vielleicht mit der Einschränkung, daß beim Urethan eine etwas frühzeitigere Beeinflussung der Kontraktilität stattfand.

Tabelle 7.

Versuchsnummer:	1		2		3		4	
Rheobase in mA Chronaxie in msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec	mA	msec
A. Vorperiode	0,13	3,8	0,02	4	0,07	2,8	0,04	3,8
RINGER	0,13	3,5	0,02	4	0,07	2,8	0,04	3,8
	0,13	3,5			0,07	2,8	0,04	3,5
Urethankonzentration	$^1/_{70}$		$^1/_{100}$		$^1/_{100}$		$^1/_{70}$	
Einwirkungszeit	10 min		10 min		7 min		12 min	
B. Urethan	0,15	3,8	0,02	6	0,07	3,5	0,04	4,5
	0,15	4	0,02	6,5	0,06	4,8	0,04	4,3
	0,13	5	0,02	6,2	0,06	5,8	0,04	5
	0,14	5,2	0,02	6,5			0,04	4,8
	0,14	6,5					0,04	6
	0,14	6,5					0,04	6,2
C. Nachperiode	0,15	4	0,02	4,3	0,06	2,2	0,04	4
RINGER	0,16	3,2	0,02	4,2	0,05	2,5	0,04	4,2
	0,16	3,5	0,02	4,3	0,05	2,5	0,04	4,3

Die angegebenen Konzentrationen sind die Endkonzentrationen eines jeden Versuches.

Die von uns verwandten Konzentrationen von 1,5 und 1% liegen vielleicht gerade an der unteren Grenze derjenigen mittleren Konzentrationen, die nach HOFMANN[30] eine reversible Permeabilitätshemmung hervorrufen. Wir können die Permeabilitätsverminderung, die wir ja auch als Ursache für die Novocainwirkung ansahen, also auch für die Wirkung des Urethans auf die Chronaxie verantwortlich machen. Wie beim Novocain wird auch hier wieder die Chronaxie weit vor der Kontraktilität verändert. Leider ließ sich nicht feststellen, ob sich bei hohen Urethankonzentrationen die Chronaxie wieder verkürzt, wie man eigentlich annehmen müßte, weil nach HOFMANN[30] hohe Konzentrationen wieder eine Permeabilitätssteigerung machen, denn die Ventrikel wurden schon mit Konzentrationen von $^1/_{30}$ gelähmt und behielten bis zum Schluß ihre verlängerte Chronaxie bei. Die HOFMANNsche Grenzkonzentration für eine irreversible Permeabilitätssteigerung liegt aber ca. bei $^1/_{12}$, so daß wir uns nicht wundern können, wenn wir bis $^1/_{30}$ noch keine Chronaxieverkürzung sahen.

Auch in diesen Versuchen geht also die Permeabilitätsverminderung des Urethans mit einer Chronaxieverlängerung ohne Änderung der Rheobase einher, wie vorher beim Kalzium und Novocain. Nur das Strophanthin macht bei vermutlich gleicher Permeabilitätsverminderung neben der Chronaxieverlängerung auch noch eine Senkung der

Rheobase, so daß man für diese Veränderung eine andere Ursache als die Permeabilitätsverminderung suchen muß.

Die scheinbare Abhängigkeit der Chronaxie von der Permeabilität der Membranen könnte dazu führen, nach einem festen Verhältnis zwischen Permeabilität und Chronaxie überhaupt zu suchen. Seit GILDEMEISTER[38] besteht eine feste Beziehung zwischen Permeabilität und Polarisationskapazität, die von GERSTNER[39] als Gesetz formuliert wurde, insofern, als eine verminderte Permeabilität mit einer verminderten Polarisationskapazität einhergeht und umgekehrt. Ein Zusammenhang zwischen Erregbarkeit und Polarisation konnte aber nach SCHAEFER[2] nie sicher gefunden werden.

Zusammenfassung.

Am isolierten, künstlich gereizten Ventrikel des Frosches wurden mit Strophanthin und anderen Muskelgiften chronaxiemetrisch folgende Ergebnisse gewonnen:

1. Kalziummangel reduzierte die Kontraktionen auf $^1/_2$—$^1/_3$ der normalen Höhe, ohne die Rheobase und die Chronaxie zu beeinflussen. Kalziumzusatz stellte die durch Kalziummangel geschädigte Kontraktilität wieder her, ohne die Rheobase und Chronaxie zu verändern. Erst im Überschuß führte Kalzium zu einer systolischen Kontraktur und zu einem Anstieg der Rheobase und Verlängerung der Chronaxie.

2. K-Strophanthin, Strophosid und Digitoxin veränderten an normalen und an durch Kalziummangel geschädigten Herzen die Rheobase und Chronaxie in therapeutischen Konzentrationen nicht. Erst mit toxischen Konzentrationen wurde eine Verlängerung der Chronaxie und ein Absinken der Rheobase beobachtet. Eine vorherige Atropinisierung des Herzens konnte weder den Einfluß von Strophanthin auf die Kontraktilität noch den Einfluß auf die Chronaxie verändern oder verhindern. Zur Erklärung der Strophanthinbefunde wurde die permeabilitätsvermindernde Wirkung der Digitalissubstanzen herangezogen.

3. Versuche mit Novocain und Urethan zeigten in Konzentrationen, die noch keinen Einfluß auf die Kontraktilität hatten, eine Verlängerung der Chronaxie bei unveränderter Rheobase. Für diese Ergebnisse wurde ebenfalls die Membranwirkung beider Stoffe verantwortlich gemacht.

4. Bei der theoretischen Ausdeutung der Strophanthinversuche konnte festgestellt werden, daß sich eine Verlangsamung der Erregungsausbreitung im Herzmuskel während einer therapeutischen Digitaliswirkung *chronaxiemetrisch* nicht beweisen läßt.

5. Ein Zusammenhang zwischen Permeabilität und Chronaxie wurde auf Grund aller Versuche vermutet, konnte aber nicht sicher bewiesen werden.

Literatur.

[1] Quincke u. Stein: Erg. Physiol. **34**, 907 (1932). — [2] Schaefer: Elektrophysiologie. Wien: Franz Deuticke 1940. — [3] Cushny, Marris u. Silberberg: Heart **4**, 33 (1913). — [4] Brandenburg: Z. klin. Med. **53**, 255 (1904). — [5] Junkmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **108**, 149 (1925). — [6] Schellong: Z. exper. Med. **75**, 767 (1931). — [7] Rijlant: Arch. internat. Physiol. **33**, 363 (1930). — [8] Lapicque: C. r. Soc. Biol. **89**, 1923. — [9] v. Werz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **167**, 89 (1932). — [10] Loewi: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **82**, 131 (1918). — [11] Kroebel: Naturwissenschaften **33**, 158 (1946). — Dtsch. med. Rundschau **3**, 16 (1949). — [12] Clark: J. of Pharm. Physiol. **47**, 66 (1913). — [13] Fredericq: zit. nach Quincke u. Stein[1]. — [14] v. Werz: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **169**, 70 (1933). — [15] Field u. Brücke: Pflügers Arch. **213**, 715 (1926). — [16] Pletner: Z. exper. Path. u. Ther. **1**, 80 (1905). — [17] Wiener u. Rihl: Z. exper. Path. u. Ther. **14**, 496 (1913). — [18] Tschistowitsch: Zbl. Physiol. **1**, 768 (1887). — [19] Oelssner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 201 (1949). — [20] Ruppert: zit. nach Oelssner[19]. — [21] Gaca: Dissertation, Göttingen, erscheint 1952. — [22] Achelis: zit. nach Quincke u. Stein[1]. — [23] Laubender: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **171**, 619 (1933); **175**, 113 (1934). — [24] Engelmann: zit. nach Weese[27]. — [25] Brandenburg u. Hofmann: zit. nach Weese[27]. — [26] v. Werz u. Diekhof: unveröffentlicht, zit. nach Weese[27]. — [27] Weese: Digitalis, Monographie, Leipzig 1936. — [28] Oldenburg: Dissertation, Göttingen 1950. — [29] Hotovy, Eichholtz u. Erdniss: Arch. internat. Pharmacodynamie **80**, 62 (1949). — [30] Hofmann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 529 (1943). — [31] Fleckenstein: Schmerzauslösung und Schmerzausschaltung. Frankfurt: Steinkopf 1950. — [32] Laubender: Heffters Hdb. d. exp. Pharm. Ergänzungsb. 8 1939. — [33] Cousy: Arch. internat. Physiol. **22**, 363 (1924). — C. r. Soc. Biol. **90**, 114 (1924). — [34] Spycher: Z. Biol. **77**, 199 (1923). — [35] Marinescou u. Kreindler: C. r. Soc. Biol. **107**, 488 (1931). — [36] Seelich: Erg. Physiol. **44**, 425 (1941). — [37] Lendle: unveröffentlicht. — [38] Gildemeister: zit. nach Hofmann[31]. — [39] Gerstner: zit. nach Hofmann[31].

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 405—415 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster i. W.
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. A. Loeser).

Biologische Wirkungen der dreiwertigen Alkohole 1, 2, 4-Butantriol und 1, 2, 3-Propantriol (Glyzerin).

Von
Rudolf Kopf, Arnold Loeser und Gerda Meyer.

Mit 2 Textabbildungen.

(*Eingegangen am 2. September 1950.*)

I. Einleitung.

Wie aus früheren vergleichenden Untersuchungen[1] hervorgeht, zeigen die dreiwertigen Alkohole 1,2,4-Butantriol (1,2,4-Trioxybutan) und Glyzerin (1,2,3-Propantriol) eine weitgehende Übereinstimmung ihrer akuten Wirkungen sowohl der örtlichen als auch der resorptiven: annähernd gleiche Toxizität, keine Reizerscheinungen am Orte der Einwirkung, ähnliche Wirkung auf den Darm, nach großen intravenösen Gaben vorübergehende Senkung des Blutdruckes sowie Beschleunigung der Atmung. Nach subkutaner Injektion verursachen beide Substanzen eine Hämoglobinurie mit entsprechenden Veränderungen des peripheren Blutes.

Da wir in anderen Versuchen[2] nachweisen konnten, daß der dreiwertige Alkohol mit 3 Kohlenstoffatomen — Glyzerin — auch nach wiederholter Verabreichung bei Ratten und Hunden keine Schädigungen im Körper verursacht, war es von Interesse zu prüfen, ob die langfristige orale Zufuhr des dreiwertigen Alkohols mit 4 Kohlenstoffatomen — 1,2,4-Butantriol — ebenso reaktionslos vertragen wird.

II. Das Verhalten des Organismus bei chronischer Einwirkung von 1,2,4-Butantriol und Glyzerin.

Zur Prüfung der Verträglichkeit wurde Ratten und Hunden per os 1,2,4-Butantriol bzw. 1,2,3-Propantriol verabfolgt, um dabei Wirkungsbild, Verhalten der inneren Organe und Blutbild zu studieren.

1. Versuche an Ratten.

Für die Versuche fanden 424 männliche und weibliche Albinoratten im Gewicht von 90—295 g Verwendung, die während der Versuchszeit (Januar bis Juni 1950) in Drahtkäfigen zu je 2—6 Tieren gehalten und in hellen luftigen Räumen untergebracht waren. Kost: Speisereste der Kliniken mit Zusatz von Hafer; Wasser ad libitum.

Von den in 2 Reihen eingeteilten Ratten erhielten in der *ersten Versuchsreihe* 5 Gruppen von je 20 Tieren *täglich* für die Dauer von 44 Tagen je 100 g Körpergewicht 1,0 cm³ einer Lösung von 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin. 1,2,4-Butantriol wurde als 1%ige, 5%ige, 10%ige und 20%ige wäßrige Lösung, Glyzerin als 20%ige wäßrige Lösung per os (Schlundsonde) verabfolgt. Während der Versuchszeit wurde das Allgemeinverhalten der Tiere beobachtet und täglich ihr Körpergewicht bestimmt. Am 45. Versuchstage töteten wir die Tiere (Entbluten) und untersuchten ihre Organe histologisch.

In der *zweiten Versuchsreihe* wurde 3 Gruppen von je 100 Ratten *2mal wöchentlich* in regelmäßigen Abständen von 3—4 Tagen 0,5 cm³ bzw. 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Lösung von 1,2,4-Butantriol bzw. 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Glyzerinlösung mit einer Schlundsonde in den Magen gegeben. Die Dauer der Versuche betrug 152 Tage. Während dieser Zeit kontrollierten wir das Allgemeinverhalten und an den Behandlungstagen das Körpergewicht der Ratten. Am 44., 84., 120. und 152. Versuchstage wurden von jeder Gruppe 10—50 Tiere (siehe Tab. 1) getötet und die Organe histologisch untersucht.

A. Wirkung auf Allgemeinverhalten und Körpergewicht.

Obwohl die Tiere unter den angegebenen Bedingungen in der ersten Versuchsreihe während 44 Tagen annähernd 15%, 75%, 150% oder etwas mehr als 300% der mittleren tödlichen Dosis von 1,2,4-Butantriol (LD 50 pro kg Ratte per os 29,40 cm³) und in der zweiten im Verlauf von 152 Tagen sogar mehr als 365% bzw. 730% der LD 50 von 1,2,4-Butantriol erhalten hatten, blieben Entwicklung und Allgemeinverhalten ungestört.

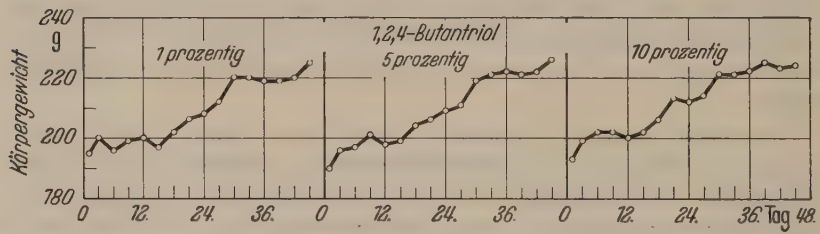


Abb. 1a. Wachstumskurven von Ratten bei täglicher Einwirkung von 1,2,4-Butantriol verschiedener Konzentrationen (1,0 cm³ einer 1%igen, 5%igen und 10%igen wäßrigen Lösung je 100 g Körpergewicht per os, Schlundsonde). Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Körpergewicht in Gramm. Jeder Punkt der einzelnen Kurven entspricht den Mittelwerten von 20 Tieren.

Wie aus Abb. 1a—c ersichtlich ist, nahm bei allen Gruppen das Körpergewicht im Mittel übereinstimmend zu. Auf die Bedeutung dieser Gewichtszunahme bei jugendlichen, gegen chronisch einwirkende Gifte besonders empfindlichen Tieren wurde bereits in anderem Zusammenhang hingewiesen[2]. Hinsichtlich der Letalität bestand bei den mit 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin behandelten Ratten kein Unterschied.

B. Verhalten von Leber, Nieren, Blase, Darm und Gehirn.

Bei der Obduktion waren weder bei den Tieren der ersten Versuchsreihe — 44 Tage täglich 1,0 cm³ einer 1%igen, 5%igen, 10%igen oder 20%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriol- bzw. einer 20%igen wäßrigen

Glyzerinlösung — noch bei denen der zweiten Versuchsreihe — 2mal wöchentlich 0,5 cm³ bzw. 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung oder 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Glyzerinlösung während 152 Tagen — am 45. bzw. 44., 84., 120. oder 152. Versuchstag an Nieren, Blase und Dünndarm mit bloßem Auge sichtbare Veränderungen zu erkennen. Lediglich in der Leber einzelner Ratten fanden sich wurm-

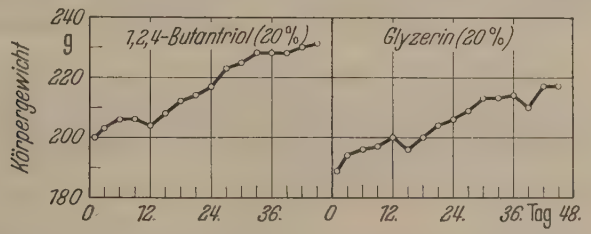


Abb. 1b. Wachstumskurven von Ratten bei täglicher Einwirkung einer 20%igen wäßrigen Lösung von 1,2,4-Butantriol bzw. einer 20%igen wäßrigen Glyzerinlösung (1,0 cm³ je 100 g Körpergewicht per os, Schlundsonde). Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Körpergewicht in Gramm. Jeder Punkt der einzelnen Kurven entspricht den Mittelwerten von 20 Tieren.

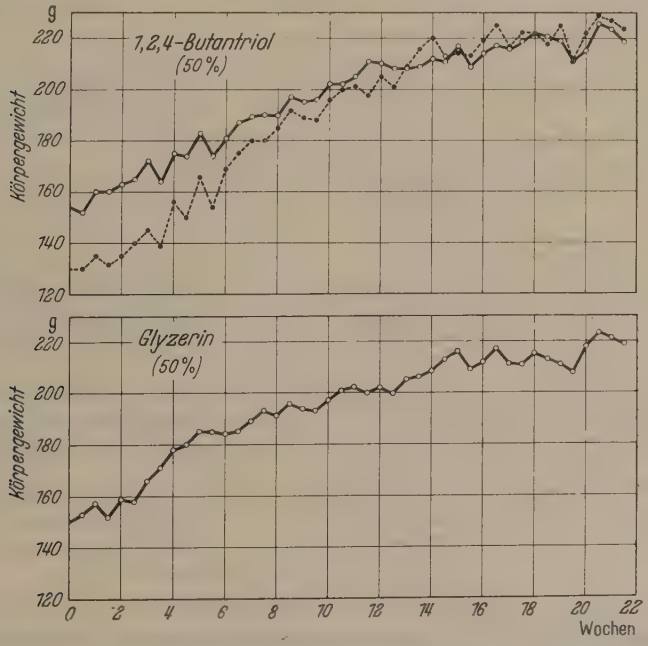


Abb. 1c. Wachstumskurven von Ratten nach Verabfolgung von 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin per os (Schlundsonde). Versuchszeit: 22 Wochen. Die Zufuhr der beiden Substanzen erfolgte 2mal wöchentlich in regelmäßigen Abständen von 3—4 Tagen. Dosis je 100 g Körpergewicht: ———— 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Lösung von 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin. — — — — — 0,5 cm³ einer 50%igen wäßrigen Lösung von 1,2,4-Butantriol. Abszisse: Zeit in Wochen. Ordinate: Körpergewicht in Gramm. Jeder Punkt der einzelnen Kurven entspricht dem Mittelwert von 50 bzw. 60 Tieren.

haltige Blasen. Die Schnittflächen des Gehirns waren bei allen untersuchten Tieren makroskopisch ohne Besonderheiten. Bei der histologischen Untersuchung* zeigten Leber, Nieren, Blase und Dünndarm keine pathologischen Veränderungen. Gelegentlich beobachtete Kalkausfällungen in den Harnkanälchen sahen wir auch bei Tieren, welche Glyzerin oder — wie es aus früheren Vergleichsversuchen bekannt ist — Wasser[3] erhalten hatten. Bei einem Teil der Ratten wurden Wurmeier in der Blase, Würmer in der Leber und in den Nierenkelchen angetroffen.

Tabelle 1. *Der Einfluß verschiedener Konzentrationen von 1,2,4-Butantriol und Glyzerin auf das Gewicht innersekretorischer Organe von Ratten.*
(1%-, 5%-, 10%-, 20%- und 50%ige wäßrige Lösungen von 1,2,4-Butantriol sowie 20%- und 50%ige wäßrige Lösung von Glyzerin per os, Versuchszeit: 45 bzw. 152 Tage.)

Versuchsdauer in Tagen	Zahl der Tiere ♂	Zahl der Tiere ♀	Substanz	Einzeldosis in cm³ je 100 g Ratte	Mittelgewichte innersekretorischer Drüsen in mg je 100 g Ratte: Schilddrüse	Nebennieren	Ovarien	Hypophyse
			I. Verabfolgung: täglich					
45	10	10	1,2,4-Butantriol 1%	1,0	11,73	20,86	27,62	4.55
45	10	10	1,2,4-Butantriol 5%	1,0	11,48	21,69	30,36	4,06
45	10	10	1,2,4-Butantriol 10%	1,0	10,20	19,68	30,50	4,68
45	10	10	1,2,4-Butantriol 20%	1,0	9,28	21,60	28,66	4,61
45	10	9	Glyzerin 20%	1,0	9,45	21,90	29,50	4,68
			II. Verabfolgung: 2 mal wöchentlich					
44	7	8	1,2,4-Butantriol 50%	0,5	10,99	20,82	25,23	4,30
44	7	8	1,2,4-Butantriol 50%	1,0	10,95	21,55	29,27	4,58
44	5	5	Glyzerin 50%	1,0	9,50	22,14	23,22	4,27
84	8	7	1,2,4-Butantriol 50%	0,5	13,85	19,51	23,96	4,61
84	8	7	1,2,4-Butantriol 50%	1,0	12,96	20,27	30,53	4,38
84	5	5	Glyzerin 50%	1,0	13,98	20,19	28,92	4,17
120	10	10	1,2,4-Butantriol 50%	0,5	11,09	19,34	24,38	4,45
120	9	9	1,2,4-Butantriol 50%	1,0	11,49	21,67	27,79	4,71
120	7	10	Glyzerin 50%	1,0	12,69	22,17	24,85	4,53
152	27	23	1,2,4-Butantriol 50%	0,5	11,42	17,25	22,26	4,52
152	15	14	1,2,4-Butantriol 50%	1,0	11,81	18,06	23,81	4,23
152	15	24	Glyzerin 50%	1,0	12,18	20,21	24,10	4,53

C. Beeinflussung der endokrinen Organe.

Im histologischen Bild ließen sich an Schilddrüsen, Ovarien, Nebennieren und Hypophysen keine Abweichungen gegenüber der Norm fest-

* Für die Durchsicht der histologischen Präparate sprechen wir an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Giese, Pathologisches Institut der Städtischen Krankenanstalten Bremen, unseren verbindlichsten Dank aus.

stellen. Das Gewicht der innersekretorischen Organe von Versuchs- und Vergleichstieren war im wesentlichen gleich (Tab. 1).

Hinweise auf funktionelle Störungen der endokrinen Drüsen kamen bei den Versuchstieren nicht zur Beobachtung. So fanden wir bei orientierenden Untersuchungen des Scheidenabstriches von Ratten, denen während 152 Tagen 2mal wöchentlich 0,5 cm³ bzw. 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung mit der Schlundsonde verabreicht worden war, keine Störung des Zyklus.

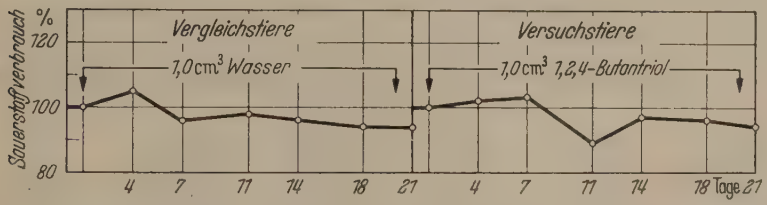


Abb. 2. Sauerstoffverbrauchswerte von Ratten bei täglicher Einwirkung von 1,2,4-Butantriol (per os; Schlundsonde). Links: Vergleichstiere (1,0 cm³ Wasser je 100 g Körpergewicht und Tag). Rechts: Versuchstiere (1,0 cm³ einer 20%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung je 100 g Körpergewicht und Tag). Abszisse: Versuchszeit in Tagen. Ordinate: Sauerstoffverbrauch je Gramm/Stunde in % des gleich 100% gesetzten mittleren Ausgangswertes. Die Pfeile geben die Dauer der Behandlung an.

Der *Sauerstoffverbrauch* verhielt sich bei Ratten, die in gesondert durchgeführten Versuchen 21 Tage täglich je 1,0 cm³ pro 100 g Körpergewicht einer 20%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung per os (Schlundsonde) erhalten hatten, ebenso wie der von mit Wasser behandelten Vergleichsratten — 1,0 cm³ Wasser je 100 g Körpergewicht und Tag — (Abb. 2).

Untersucht wurden 2 Gruppen von je 12 Ratten — jeweils 6 männliche und 6 weibliche Tiere — im Gewicht von 175—240 g mit Hilfe der von Loeser, Ruland und Trikojus[4] beschriebenen Methode. Die in Einzelkäfigen gehaltenen Tiere waren in einem verdunkelten, gleichmäßig geheizten Raum untergebracht, der täglich 10 Std (8—18 Uhr) durch Tageslichtlampen erhellt wurde. Als Futter erhielten diese Tiere eine Standardkost, die aus Haferflocken, Maismehl, Trockenhefe, Trocken-Magermilch, Lebertran und McCollumschem Salzgemisch bestand und verbacken war.

D. Wirkung auf den Glykogengehalt der Leber.

Der Glykogengehalt der Leber von 10 Ratten (jeweils 5 männliche und 5 weibliche Tiere pro Gruppe), denen während 152 Tagen 2mal wöchentlich 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung zugeführt worden war, betrug 3,01%. Nach Verabfolgung entsprechender Mengen einer 50%igen wäßrigen Glyzerinlösung lag er bei 2,95%. Die Vorbereitung der Tiere und die Ausführung der Glykogenbestimmung

erfolgte nach den Angaben von Eitel und Loeser[5] (Hungerzeit: 8 Std, anschließend 0,75 g Lävulose je 100 g Körpergewicht per os; 6 Std nach der Kohlenhydratzufuhr Tötung durch Entbluten).

Tabelle 2. *Der Einfluß von 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin auf den Glykogengehalt der Leber von Ratten*

(Dosis: 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Lösung von 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin je 100 g Körpergewicht 2mal wöchentlich in regelmäßigen Abständen von 3—4 Tagen, Versuchszeit: 152 Tage.)

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuches	Tiergewicht in g am Ende des Versuches	Gewicht der Leber in g	Leberglykogen in mg	Leberglykogen in %
		1,2,4-Butantriol			
3466	155	248	6,00	178,36	2,97
3467	150	235	6,00	212,08	3,53
3468	175	249	6,50	233,60	3,59
3469	170	222	4,65	153,88	3,31
3470	190	302	5,70	255,12	4,47
3448	130	240	6,50	182,08	2,80
3451	160	194	5,50	112,72	2,05
3452	120	151	4,00	85,64	2,14
3453	160	188	5,70	135,36	2,37
3456	135	211	5,00	145,00	2,90
				Mittelwert:	3,01
		Glyzerin			
3266	200	323	8,30	269,20	3,24
3267	155	264	6,45	157,96	2,44
3268	170	269	6,30	165,00	2,62
3269	150	258	6,50	206,52	3,18
3270	170	278	6,00	121,64	2,03
3259	135	201	6,00	161,68	2,69
3260	130	202	5,65	182,08	3,22
3261	115	205	6,10	159,44	2,61
3264	125	191	6,75	246,96	3,66
3265	150	194	5,90	226,56	3,84
				Mittelwert:	2,95

E. Wirkung auf das Blutbild.

Um den Einfluß von 1,2,4-Butantriol auf das Blutbild kennen zu lernen, verabfolgten wir 20 männlichen Ratten im Gewicht von 150 g bis 230 g 2 mal wöchentlich je 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung/100 g Körpergewicht (Schlundsonde). Als Vergleichstiere dienten 20 gleich schwere männliche Ratten, die während derselben Zeit die entsprechende Menge einer 50%igen wäßrigen Glyzerinlösung erhielten. Das Blut wurde aus der Schwanzvene der Tiere entnommen und nach den an anderer Stelle mitgeteilten Methoden[6] in Abständen von 4 Wochen untersucht.

Bei diesen Untersuchungen ergab sich kein Anhalt für eine Schädigung des Blutbildes. Die Mittelwerte der einzelnen Blutelemente von Versuchs- und Vergleichsratten stimmten weitgehend überein. In beiden Tiergruppen kam es zu einem geringfügigen Anstieg des Hämoglobingehaltes sowie der Zahl der Erythrozyten und eosinophilen Leukozyten. Dieser Zunahme darf unseres Erachtens jedoch keine Bedeutung beigelegt werden, da bekanntlich die einzelnen Elemente des Rattenblutes viel weniger konstant sind als die des menschlichen Blutes. Als Beispiel seien folgende in der Literatur[7] angegebenen Normalwerte für Rattenblut angeführt: Erythrozyten 5,05—9,31 Millionen, Hämoglobin 13,5—17,5 g, Leukozyten 4 350—26 250, neutrophile Leukozyten 6—57 %, eosinophile Leukozyten 0—7 %, Lymphozyten 38—88 %, Monozyten 0—7 %.

F. Wirkung auf Knochensystem und Zähne.

Bei je 6 männlichen Ratten, denen 2mal wöchentlich 0,5 cm³ oder 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung bzw. 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Glyzerinlösung je 100 g Körpergewicht mit der Schlundsonde zugeführt worden war, wurden vor Beginn der Behandlung und anschließend in der 7., 14. und 22. Woche des Versuches die unteren Schneidezähne sowie Femur und Tibia geröngt. Dabei zeigte sich, daß 1,2,4-Butantriol unter den angegebenen Bedingungen ebenso wenig wie Glyzerin röntgenologisch darstellbare Veränderungen verursacht.

G. Wirkung auf die Haut.

In diesen Versuchen wurden bei einer Gruppe von 5 *Meerschweinchen* im Gewicht von 204—227 g 1mal täglich auf die geschorene *unverletzte*, bei einer zweiten Gruppe von 10 Meerschweinchen (Gewicht 200—255 g) auf die künstlich *verletzte* empfindliche Bauchhaut je Kilogramm Körpergewicht 23,31 cm³ unverdünntes 1,2,4-Butantriol aufgetragen. Diese Menge entsprach bei Mäusen der mittleren tödlichen Dosis. Ein Ablecken der Substanz wurde durch Fixierung der nicht narkotisierten Tiere verhindert. Nach 2stündiger Einwirkung wurde das 1,2,4-Butantriol mit warmem Wasser abgewaschen, die Tiere trocken geföhnt und in einen Thermostaten gebracht. Am 5. (Meerschweinchen, deren Haut künstlich verletzt war) bzw. 15. Versuchstage (Meerschweinchen, deren Haut unverletzt war) wurden die Tiere getötet und Leber, Nieren und Blase histologisch untersucht.

Während der ganzen Behandlungszeit wurden Allgemeinverhalten (Müdigkeit, Schlaf, Hyperreflexie, Krämpfe) und Körpergewicht der Tiere durch 1,2,4-Butantriol nicht beeinflußt. Reiz- oder Entzündungserscheinungen an der Haut fehlten. Im Harn wurde weder Eiweiß noch roter Blutfarbstoff gefunden. Die Organe zeigten makroskopisch und mikroskopisch keine krankhaften Veränderungen.

H. Verhalten des Dickdarmes bei Einwirkung von 1,2,4-Butantriol.

In einer früheren Mitteilung haben Bornmann, Kopf und Meyer[8] bereits darauf hingewiesen, daß 1,2,4-Butantriol als Einlauf gegeben, am Ganztier — unverdünnt 0,5 cm³ bei der Ratte, 1,0 cm³ beim Meerschweinchen, 5,0 cm³ beim Hund — ebenso sicher Darmentleerungen bewirkt wie gleiche Mengen Glyzerin. Das Allgemeinbefinden der Tiere blieb dabei unverändert. Obwohl das in den Darm eingeführte 1,2,4-Butantriol mit dem Kot ausgestoßen wird, mußte offen bleiben, ob nicht dennoch ein Teil im Darm als Rest verbleibt und resorptive Wirkungen (z. B. Hämolyse) verursachen kann. Im kurzfristigen Versuch konnte diese Frage nicht beantwortet werden.

Aus diesem Grunde erhielten 10 nicht narkotisierte 160—275 g schwere Ratten im Verlauf von 13 Tagen täglich je 0,5 cm³ unverdünntes 1,2,4-Butantriol rektal. Am 7. Tage wurde eine Pause eingelegt. Jedem Tier wurden insgesamt 6,0 cm³ 1,2,4-Butantriol als Einlauf gegeben. Auch in der vorliegenden Versuchsanordnung zeigte das Allgemeinverhalten der Tiere keine Besonderheiten. Eine Ausscheidung von rotem Farbstoff im Harn (Hämoglobin) wie sie nach subkutaner Injektion schon relativ kleiner Mengen von 1,2,4-Butantriol — z. B. $^1/_{10}$ der bei Ratten ermittelten LD 50 (subkutan) — bei Ratten regelmäßig zu beobachten ist, fehlte. Die Nieren der Tiere zeigten morphologisch dasselbe Verhalten wie die von Ratten, welche während 12 Tagen täglich je 0,5 cm³ Glyzerin DAB VI rektal erhalten hatten.

2. Versuche an Hunden.

8 Hunde im Gewicht von 6,2—14,1 kg wurden unter gleichen Bedingungen, nach Geschlecht getrennt, in 2 Zwingern gehalten und mit Speiseresten der Kliniken, unter Zusatz von Lebertran gefüttert. Eine Gruppe (3 weibliche Hunde, 1 männliches Tier) erhielt 2 mal wöchentlich je kg Körpergewicht 2,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Butantriollösung, eine andere Gruppe (1 männliches und 1 weibliches Tier) je kg Körpergewicht dieselbe Menge einer 50%igen wäßrigen Lösung von Glyzerin per os (Schlundsonde). Eine dritte Gruppe (1 männliches und 1 weibliches Tier) blieb unbehandelt. Aus äußeren Gründen mußte nach der 8. Fütterung der Substanzen eine Behandlungspause von 14 Tagen eingelegt werden. Anschließend erhielten die Hunde wieder 2 mal wöchentlich die oben angegebenen Mengen 1,2,4-Butantriol bzw. Glyzerin für die Dauer von weiteren 12 Wochen.

Die verabreichten Mengen 1,2,4-Butantriol oder Glyzerin wurden von allen Hunden reaktionslos vertragen. Bei den ausgewachsenen Hunden aller Gruppen blieb das Körpergewicht konstant, während es bei den noch in der Entwicklung befindlichen stetig zunahm. Im Harn, der wöchentlich 1 mal untersucht wurde, waren die Reaktionen auf Eiweiß (Kochprobe), Zucker (Trommersche Probe), Azeton (Legalsche Probe), Azetessigsäure (Ferrichlorid) und Urobilin (Schlesingers Reagenz)

negativ*. Urobilinogen (EHRLICHS Reagenz) trat nicht vermehrt auf. Hämaturie wurde nicht beobachtet.

Nach Ablauf der 4 Monate dauernden Versuchszeit (Februar bis Juni 1950) wurden Leber, Nieren, Blase, Magen, Darm, Milz, Nebennieren, Herzmuskel und Lunge der Tiere histologisch untersucht. Das morphologische Bild dieser Organe entsprach dem von Organen unbehandelter Hunde.

3. Beobachtungen am Menschen.

Frühere Untersuchungen[9], nach denen beim Menschen während und nach 3tägiger innerlicher Einnahme von 1,0 cm³ bzw. 2,0 cm³ 1,2,4-Butantriol als 50%ige Lösung weder Veränderungen des Allgemeinzustandes noch solche des Harns auftraten, wurden mit modifizierter Methodik im Selbstversuch über einen Zeitraum von 34 Tagen, d. h. über eine Zeit von annähernd 5 Wochen, ausgedehnt. Dabei ergab sich, daß 1,2,4-Butantriol als 50%ige wäßrige Lösung innerlich eingenommen auch bei langfristiger Zufuhr (5 Wochen) den Allgemeinzustand nicht beeinträchtigt. Der täglich untersuchte Harn war frei von pathologischen Bestandteilen. Es war gleichgültig, ob vor der Einnahme von 1,2,4-Butantriol Alkohol bzw. Nikotin aufgenommen worden war oder nicht. Ebenso war es in diesem Versuch ohne Belang, ob die zuzuführende 1,2,4-Butantriolmenge (5 oder 10 cm³ als 50%ige wäßrige Lösung) in Abständen von 4 Tagen, von 3 Tagen oder täglich getrunken wurde.

Die gesunde menschliche Haut wird bei wiederholter Einwirkung von 1,2,4-Butantriol nicht geschädigt.

Unverdünntes 1,2,4-Butantriol wurde 6 weiblichen und 6 männlichen Personen, die sich für diese Versuche freiwillig zur Verfügung gestellt hatten, an 10 aufeinanderfolgenden Tagen 2mal täglich (um 10 Uhr und 15 Uhr) mit einem Wattebausch auf der Innenfläche des linken Unterarmes (Fläche 5 × 10 cm) leicht verrieben und dort belassen.

Weder innerhalb der Behandlungszeit noch an den der Behandlung folgenden Tagen konnten irgendwelche Zeichen einer Schädigung an der Haut der Versuchspersonen beobachtet werden. Auch fehlten Reizerscheinungen. An der Applikationsstelle wurde lediglich ein leichtes Wärmegefühl empfunden.

Das Allgemeinbefinden war bei keiner Versuchsperson gestört. Weibliche und männliche Personen verhielten sich gegenüber der Einwirkung

---

* Aus versuchstechnischen Gründen wurde der Harn der Tiere frühestens 24 Std nach der letzten Fütterung von 1,2,4-Butantriol aufgefangen. Der negative Azetonbefund widerspricht daher nicht der in einer früheren Mitteilung niedergelegten Beobachtung, nach welcher der in direktem Anschluß an die Fütterung gewonnene Harn azetonhaltig sein kann.

von 1,2,4-Butantriol gleich. Bei der Untersuchung des Harnes konnten vor, während und am Ende der Versuchszeit keine Unterschiede festgestellt werden.

Zusammenfassung.

Obwohl der dreiwertige Alkohol 1,2,4-Butantriol kohlenstoffreicher ist als Glyzerin, stimmen seine biologischen Wirkungen sowohl bei kurzfristiger als auch bei langfristiger, 4—5 Monate dauernder, oraler Zufuhr mit denen des dreiwertigen Alkohols Glyzerin (1,2,3-Propantriol) weitgehend überein.

In gleicher Weise wie das als praktisch ungiftig bekannte Glyzerin läßt auch 1,2,4-Butantriol — 44 Tage täglich 1,0 cm³ einer 1%igen, 5%igen, 10%igen oder 20%igen bzw. 2mal wöchentlich 0,5 cm³ oder 1,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen 1,2,4-Butantriollösung je 100 g Körpergewicht per os während 152 Tagen — bei Ratten Allgemeinzustand, Körpergewicht, Leber, Nieren, Blase, Darm, Gehirn, endokrine Organe, Sauerstoffverbrauch, Blutbild, Glykogengehalt der Leber sowie Knochensystem und Zähne unbeeinflußt.

Allgemein- oder Organschädigungen (Niere) fehlen auch, wenn Ratten im Verlaufe von etwa 13 Tagen täglich 0,5 cm³ unverdünntes 1,2,4-Butantriol als Einlauf gegeben wird oder Meerschweinchen 23,31 cm³/kg auf die Haut gebracht werden.

Bei Hunden verursacht 1,2,4-Butantriol — 2mal wöchentlich je kg Körpergewicht 2,0 cm³ einer 50%igen wäßrigen Lösung für die Dauer von etwa 4 Monaten — weder Veränderungen des Allgemeinzustandes noch solche an Leber, Nieren, Blase, Magen, Darm, Milz, Nebennieren, Herzmuskel oder Lunge.

Beim Menschen bleibt der Harn nach wiederholter innerlicher Verabfolgung von 5 bzw. 10 cm³ einer 50%igen wäßrigen Lösung von 1,2,4-Butantriol frei von pathologischen Bestandteilen, gleichgültig, ob 1,2,4-Butantriol während der Versuchszeit (etwa 5 Wochen) in Abständen von 4 Tagen, 3 Tagen oder täglich eingenommen wird. Alkohol und Nikotin scheinen die Verträglichkeit von 1,2,4-Butantriol nicht zu beeinflussen.

Von der menschlichen Haut wird 1,2,4-Butantriol unter den angegebenen Bedingungen ebenso reaktionslos vertragen wie Glyzerin.

Obwohl die Frage, ob die beim Menschen und bei verschiedenen Tierarten festgestellte gute Verträglichkeit des 1,2,4-Butantriol vielleicht damit zusammenhängt, daß die Substanz im Körper in ähnlicher Weise abgebaut und ausgeschieden wird wie Glyzerin, vorläufig noch unbeantwortet bleiben muß, läßt sich als Gesamtergebnis aus den hier mitgeteilten Versuchen ableiten, daß der dreiwertige Alkohol mit 4 Kohlen-

stoffatomen 1,2,4-Butantriol, per os gegeben, praktisch als ebenso ungiftig anzusehen ist, wie der dreiwertige Alkohol mit 3 Kohlenstoffatomen Glyzerin.

Literatur.

[1] Bornmann, G., A. Loeser u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 361 (1950). — Bornmann, G.: Pharmazie 1950, 423. — Bornmann, G., R. Kopf u. G. Meyer: Z. exper. Med. **116**, 87 (1950). — [2] Fischer, L., R. Kopf, A. Loeser u. G. Meyer: Z. exper. Med. **115**, 22 (1949). — [3] Kopf, R., A. Loeser u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 346 (1950). — [4] Loeser, A., H. Ruland u. V. M. Trikojus: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **189**, 669 (1938). — [5] Eitel, H., u. A. Loeser: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **167**, 383 (1932). — [6] Siehe: Fischer, L., R. Kopf, A. Loeser u. G. Meyer: Z. exper. Med. **115**, 22 (1949). — [7] Vogel, M., and T. H. McGavack: J. of Pharmacol. **86**, 120 (1946). — [8] Bornmann, G., R. Kopf u. G. Meyer: Z. exper. Med. **116**, 87 (1950). — [9] Bornmann, G., A. Loeser u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 361 (1950).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 416—432 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg
(Vorstand: Prof. Dr. F. Eichholtz).

Elektrophysiologische Studien zum Mechanismus des Nerven-Blocks durch Schmerzstoffe und Lokalanästhetika*.

Von
A. Fleckenstein**.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. September 1950.)

In vorausgegangenen Untersuchungen[10] ist als gemeinsame Eigenschaft spezifisch schmerz-erregender Substanzen die Fähigkeit zu Tage getreten, depolarisierend zu wirken: Kalium- und Rubidium-Ionen, Ca^{++}-fällende Stoffe, Veratrin sowie sehr zahlreiche — durch Hemmung des oxydativen Zellstoffwechsels wirksame — Schmerzgifte üben ihre sensiblen Reiz-Effekte offenbar dadurch aus, daß sie die schmerzvermittelnden Nervenendigungen durch Depolarisation in Erregung versetzen.

Bei Einwirkung in stärkerer Konzentration können solche depolarisierenden Substanzen die Leitfähigkeit der Nervenfasern aufheben. Dieser Block durch Schmerzstoffe ist bisher nur in Einzelfällen (KCl, RbCl, Na^+-Oxalat) systematisch untersucht worden.

Nach Woronzow[35] gewinnt eine durch diese Substanzen blockierte Nervenstrecke augenblicklich ihre Leitfähigkeit zurück, wenn sie bei Einschaltung eines Gleichstroms unter den Einfluß der repolarisierenden Anode gerät. Elektrische Wiederaufladung der Nerven-Membranen von außen im Anelektrotonus genügt also, um hier die Leitfahigkeit zu restituieren.

Ob auch bei den anderen Schmerzgiften — insbesondere bei den oxydationshemmenden Substanzen — die Anode zur Beseitigung des Blocks genügt, ist bisher nicht geprüft.

Lokalanästhetika üben nach unseren Untersuchungen[9, 10, 15, 18, 21] entgegengesetzte Effekte wie die Schmerzstoffe auf das Membran-Potential aus; sie hemmen die Depolarisation und fixieren offenbar dadurch die Fasern im unerregten Ruhezustand. Schon 1946 ist von Bennett u. Chinburg[1] darauf hingewiesen worden, daß beim Lokalanästhetikum-Block des N.ischiadicus vom Frosch keine Depolarisation

* In vorausgegangenen Publikationen[10, 12, 14] ist bereits eine vorläufige Mitteilung einzelner Teilergebnisse erfolgt.

** Herrn Geheimrat Prof. Dr. Eugen Rost zum 80. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

nachweisbar ist. Der Mechanismus dieses Blocks ist also offensichtlich ganz anders als bei den Schmerzstoffen.

Die im folgenden wiedergegebenen Untersuchungen sollten die Natur des Blocks durch Schmerzstoffe bzw. Lokalanästhetika weiter analysieren. Dabei wurde vor allem geprüft

a) ob der Block durch Schmerzstoffe tatsächlich im wesentlichen durch Depolarisation verursacht ist und ob er dementsprechend durch anodische Repolarisation wieder beseitigt werden kann.

b) wie sich der Lokalanästhetikum-Block in seiner Beeinflußbarkeit durch die Kathode bzw. Anode vom Block durch Schmerzstoffe unterscheidet.

c) ob sich Schmerzstoffe, die depolarisieren, und Lokalanästhetika, die der Depolarisation entgegenwirken, bei gleichzeitiger Anwendung unter Umständen gegenseitig in ihrer blockierenden Wirkung auf die Nervenleitung aufheben können.

Experimenteller Teil.

I. Die restitutive Wirkung der Anode bei Leitungsunterbrechung durch Schmerzstoffe.

(Versuche zusammen mit M. Jänner und H. Merkl.)

Methode.

Unsere Untersuchungen wurden in Anlehnung an die Methode von Wokonzow[35] am Ischiadicus-gastrocnemius-Präparat (Eskulenten von 30—70 g) ausgeführt. Der Nerv wurde in seiner ganzen Länge mit einem Stückchen Wirbelsäule herauspräpariert. Das zentrale Nervenende wurde dann durch Anheften dieses Knochenteils mit einer Nadel an einer Korkplatte fixiert, das distale Ende des Präparats wurde mit Hilfe eines feinen Hakens an einem Stück Femur-Knochen befestigt. Der M.gastrocnemius tauchte in Sauerstoff-durchperlte Ringer-Lösung ein; seine Zuckungen wurden über eine Rolle und einen isotonischen Hebel registriert. Der Nerv selbst befand sich frei in Luft und wurde während des Versuchs mit Ringer-Lösung befeuchtet. Etwa am Übergang des Nerven in sein distales Drittel wurde eine Strecke von etwa 1,5 cm in ein kleines Gefäß mit den zu untersuchenden Substanzen eingelegt. Der Nerv verlief außerdem über 2 Paar Platin-Elektroden (Abstand der Pole jeweils 5 mm) zur Prüfung der Leitfähigkeit: Das eine Paar befand sich zentralwärts von der eingetauchten Nervenstrecke, das andere Paar distalwärts etwa 1 cm vor dem Eintritt des Nerven in den Muskel; Reizung mit Öffnungs- und Schließungs-Induktionsströmen, die über einen Quecksilberschlüssel dem einen oder anderen Elektroden-Paar zugeleitet wurden. Der Primärspule des Induktoriums (ohne Eisenkern) war ein Widerstand vorgeschaltet. Dieser wurde jeweils zu Beginn eines Versuches so einreguliert, daß die Reizschwelle für den unvergifteten Nerven bei etwa 12—14 cm Rollenabstand lag. Das Schließen und Öffnen des Reizstroms erfolgte über eine Morsetaste.

Zur Zufuhr des konstanten Stromes diente ein Paar unpolarisierbarer Zink-Zinksulfat-Pinsel-Elektroden; die eine dieser Elektroden tauchte in die Lösung mit den zu untersuchenden Substanzen ein, die andere berührte das Stückchen Wirbelsäule am zentralen Ende des Nerven. Der Strom wurde von einem 2 Volt-Akkumulator meist ohne Einschaltung eines Widerstands geliefert. Die Stromrichtung

wurde über eine Pohlsche Wippe gewendet; die Stromstärke betrug gewöhnlich etwa 15 –20 $\times$ 10^{-6} Amp. Das zentrale Paar der Platin-Elektroden berührte den Nerven jeweils in der Mitte zwischen diesen beiden unpolarisierbaren Elektroden. Sämtliche Stativteile unserer Apparatur waren aus Bakelit und sorgfältig gegeneinander isoliert.

Zu Beginn des Versuchs wurde die später zu blockierende Nervenstrecke jeweils in Ringer-Lösung (im Liter 6,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,1 g $NaHCO_3$, 0,2 g $CaCl_2$ trocken) eingelegt; erst nach 5—15 min wurde diese Ringer-Lösung gegen die Lösungen mit den leitungsunterbrechenden Stoffen ausgewechselt. Von Beginn an wurden bei Reizung vom zentralen Elektroden-Paar aus alle 5 min die Reizschwellen (ausgedrückt als Rollenabstand des Induktoriums in Zentimeter) a) für die normale Leitung, b) für die Leitung bei kathodischer und c) für die Leitung bei anodischer Polarisation der eingetauchten Nervenstrecke kurz hintereinander bestimmt. Die Dauer der kathodischen bzw. anodischen Polarisation betrug jeweils etwa 5 sec; gegen Ende der Versuche mußte die Dauer der anodischen Polarisation unter Umständen bis 30 sec verlängert werden. Die anodische Polarisation wurde jeweils zuletzt geprüft, weil nach Ausschalten der Anode am vergifteten Nerven eine depressive Wirkung eintreten kann, die unter Umständen die normale Leitfähigkeit vorübergehend unterdrückt*. Die Ausschaltung des Anelektrotonus wirkt also dann wie Einschaltung des Katelektrotonus! Nach Bestimmung der Reizschwelle für b) und c) wurde der Strom jeweils wieder abgeschaltet, so daß der Nerv für den Rest der 5-Minuten-Perioden bis zur nächsten Bestimmung nicht von Gleichstrom durchflossen wurde. Es wurden nur solche Versuche verwertet, bei denen am Ende die Muskel-Erregbarkeit bei indirekter Reizung vom distalen Elektroden-Paar aus noch völlig intakt war.

Die Schwierigkeit bei den Versuchen mit Veratrin bzw. NaCN lag anfänglich in der hohen Empfindlichkeit des Muskels schon für geringe, vom Nerven aus überdiffundierende Giftmengen. Um diese Wirkungen abzuschwächen, wurde bei den Veratrin-Versuchen für den Muskel eine Ringer-Lösung verwendet, deren $CaCl_2$-Gehalt auf 0,5 g im Liter erhöht war. Bei den Versuchen mit NaCN wurde der Muskel durch einen 1%igen Glukose-Zusatz in die Ringer-Lösung einigermaßen hinreichend geschützt.

Tabelle 1. *Die Anoden- und Kathodenwirkung auf den Block durch Kalium, Rubidium, Veratrin und Ca^{++}-entionisierende Stoffe.*

Substanz		Mittlere Dauer der Leitfähigkeiten nach Schmerzstoff-Zusatz			Anodische Verlängerung der Leitfähigkeit[1]	Anzahl der Versuche
		a) Normal Minuten	b) Kathode Minuten	c) Anode Minuten		
KCl	0,765%	20,2	15,5	41,5	2,1 fach	20
RbCl	1,24 %	19,6	9,1	39,7	2,2 fach	6
Na-Zitrat	1,32 %	137,0	100,0	2oo,0	1,4 fach	5
Na-Oxalat	0,45 %	80,0	70,0	157,0	2,1 fach	5
Na-Fluorid	0,43 %	81,0	77,0	116,0	1,4 fach	5
Veratrin/Ringer	1 : 1000	26,3	16,8	57,8	2,2 fach	20

[1] Mittelwert berechnet aus den einzelnen Versuchen.

* Eine — dieser Erscheinung analoge — Senkung der Erregbarkeit nach Ausschaltung des Anelektrotonus ist am erstickenden Nerven zuerst von Thörner (Pflügers Arch. **206**, 411 [1924]) beschrieben worden.

a) Die anodische Wiederherstellung der durch Kalium, Rubidium, Veratrin und Ca^{++}-entionisierende Substanzen unterbrochenen Nervenleitung.

Kalium- und Rubidium-Ionen[27], Veratrin[31, 32] sowie Ca^{++}-entionisierende Substanzen[29] sind am Nerven spezifisch depolarisierend und verursachen bei intrakutaner Injektion, wie bereits erwähnt, außerordentlich starke Schmerzen[10]. Bei Einwirkung auf den N. ischiadicus geht die Leitfähigkeit (vgl. Tab. 1, Spalte a) nach einiger Zeit verloren. Eine 0,765%ige (isotonische) KCl-Lösung führte z. B. im Mittel aus 20 Versuchen nach 20,2 min zur Leitungsunterbrechung; die Muskeln waren dann nur noch vom distalen, d.h. muskelnahen Elektroden-Paar aus reizbar; bei schwächeren KCl-Konzentrationen tritt der Block etwas langsamer ein (vgl. Abb. 1). Veratrin in Konzentration 1 : 1000 in Ringerlösung unterbrach die Leitfähigkeit im Mittel nach 26,3 min (20 Versuche), RbCl nach 19,6 min, isotonische Lösungen von Na^+-Zitrat, Na^+-Oxalat und Na^+-Fluorid benötigten längere Einwirkungszeiten.

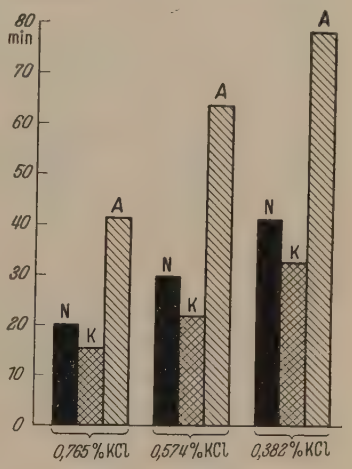


Abb. 1. *Kathoden- und Anoden-Wirkung auf den Nerven-Block durch verschieden starke KCl-Konzentrationen.* Mittlere Dauer der Leitfähigkeiten (Minuten) bei Einwirkung von KCl in isotonischer 0,765%iger (20 Versuche) bzw. 0,574%iger (10 Versuche) bzw. 0,382%iger Lösung (10 Versuche). Die Isotonie war bei den 0,574 und 0,382%igen Lösungen jeweils mit NaCl hergestellt. *N* normale Dauer der Leitfähigkeit nach Beginn der KCl-Einwirkung, *K* Dauer der Leitfähigkeit bei kathodischer Polarisation, *A* Dauer der Leitfähigkeit bei anodischer Polarisation der mit KCl behandelten Nervenstrecke.

Es ergab sich nun, daß nicht nur der Block nach Kaliumchlorid, Rubidiumchlorid und Natrium-Oxalat (Woronzow[35]), *sondern auch nach Natrium-Zitrat, Natrium-Fluorid und Veratrin augenblicklich aufgehoben wird, wenn bei Einschalten des Gleichstroms die Anode in die leitungsunterbrechenden Lösungen eintaucht.* Durch die repolarisierende Anode konnte z. B. die Leitfähigkeit, die bei Einwirkung von 0,765%iger KCl-Lösung nach 20,2 min verloren gegangen war, im Mittel 41,5 min lang (vgl. Tab. 1, Spalte c), d. h. noch 21,3 min nach Eintritt des vollen Blocks aufrecht erhalten werden. Auch beim Veratrin und Rubidium-Block dauert die Leitfähigkeit mit Hilfe der Anode etwa doppelt solange als ohne Anode an. Beim Zitrat- und Oxalat-Block war die restituierende Wirkung der Anode im Mittel länger als 1 Std deutlich. Gegen Ende des Versuchs restituiert die Anode häufig nicht mehr sofort, sondern muß erst einige Sekunden (bis 30 sec) eingeschaltet sein, bis ein Effekt sichtbar wird.

Aus der längeren Dauer der absoluten Restitutionszeiten darf nicht auf eine besonders gute Restituierbarkeit des Zitrat- und Oxalat-Blocks geschlossen werden; denn immer dann, wenn bis zum Eintritt des Blocks eine längere Zeit vergeht, ist auch die absolute Dauer der Restituierbarkeit auffällig groß. Die gleiche Erscheinung zeigt sich auch bei dem Block durch schwächere KCl-Konzentrationen (vgl. Abb. 1): Hier nimmt ebenfalls die absolute, nicht aber die relative Dauer der Restitutionszeiten zu; denn auch bei schwächeren KCl-Konzentrationen bleibt der Nerv bei anodischer Polarisation jeweils etwa doppelt so lange als ohne Anode leitfähig.

Die Kathodenwirkung ist in allen Fällen der Anodenwirkung entgegengesetzt: *Wird die in die Lösung eintauchende Elektrode durch Wenden*

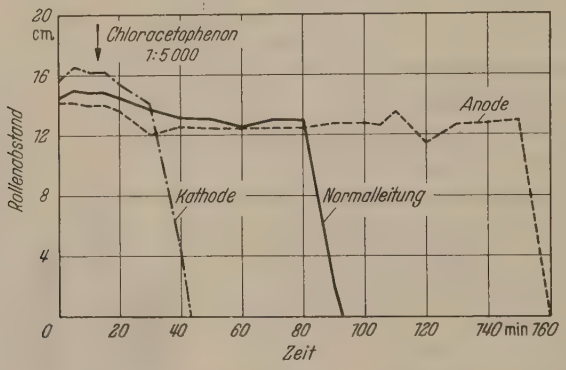


Abb. 2. *Kathoden- und Anodenwirkung auf den Chlorazetophenon-Block.*

des Stromes zur Kathode, so führt dieser — zusätzlich depolarisierende — Kathoden-Effekt schon vor Eintritt des vollen Schmerzstoff-Blocks zur Leitungsunterbrechung. Die mittleren Zeiten bis zum Erlöschen der Leitfähigkeit bei kathodischer Polarisation sind für die einzelnen Stoffe aus Tab. 1 (Spalte b) zu ersehen.

b) Die anodische Wiederherstellung der durch atmungshemmende Schmerzstoffe unterbrochenen Nervenleitung.

Die Leitfähigkeit des Nerven geht bekanntlich im Zustand der Anoxie verloren. Als entscheidend für diese Leitungsunterbrechung wird ebenfalls eine sich ausbildende Depolarisation angesehen. In diesem Zusammenhang mußte besonders die Gruppe höchst aktiver atmungshemmender Schmerzgifte (Allylsenföl, Akrolein, monohalogenierte Ketone, Chlorazetophenon, Benzylbromid, Xylylbromid, Halogenzyane) interessieren, deren Angriffspunkte im Dehydrasen-Anteil des oxydativen Stoffwechsels liegen[8, 10, 11, 13, 14].

In Abb. 2 ist als Beispiel der Verlauf eines typischen Versuchs bei Verwendung von Chlorazetophenon (Konzentration 1 : 5000 in Ringer-Lösung) wiedergegeben: Zu Beginn liegt die später zu blockierende Nervenstrecke in Ringer-Lösung. Bei indirekter Reizung über die zentralen Platin-Elektroden ist der M.gastrocnemius

bei einem Rollen-Abstand des Schlitten-Induktoriums von 14,5 cm erregbar. Bei Einschalten des Gleichstroms verschiebt sich diese Schwelle etwas (14,2 cm bei anodischer, 15,8 cm bei kathodischer Polarisation). Nach 13 min wird die RINGER-Lösung des Gefäßes durch eine Chlorazetophenon-RINGER-Lösung ersetzt. Bis zur 80. min wird die normale Leitfähigkeit des Nerven dadurch kaum beeinflußt; dann aber tritt ein steiler Abfall ein und nach 93 min Versuchsdauer sind selbst bei kleinstem Rollen-Abstand, d. h. stärksten Stromstärken von den zentralen Platin-Elektroden aus keine Muskelzuckungen mehr auszulösen. Dagegen ist der Muskel von den distalen, muskelnahen Platin-Elektroden aus unverändert gut indirekt reizbar. Bei anodischer Polarisation der blockierten Nervenstrecke kehrt nun die Leitfähigkeit — trotz weiterer Einwirkung der Chlorazetophenon-Lösung — augenblicklich zurück; erst nach 160 min Versuchsdauer verliert die Anode diese restitutive Wirkung. Entgegengesetzte Effekte hat auch hier die kathodische Polarisation, die schon nach 43 min Versuchsdauer die vergiftete Nervenstrecke unpassierbar machte.

Die Endergebnisse von 69 derartigen Versuchen mit Allylsenföl, Akrolein, Monobromazeton, Chlorazetophenon, Bromzyan, Benzylbromid, Xylylbromid sind in Tab. 2 zusammengefaßt. *Es ergibt sich*

Tabelle 2. *Die Anoden- und Kathodenwirkung auf den Block durch oxydationshemmende Schmerzstoffe* (69 Versuche).

Substanz in RINGERlösung	Mittlere Dauer der Leitfähigkeiten nach Schmerzstoff-Zusatz			Anodische Verlängerung der Leitfähigkeit*	Anzahl der Versuche
	a) Normal Minuten	b) Kathode Minuten	c) Anode Minuten		
Allylsenföl 1 : 5000	19,0	14,5	60,6	3,2fach	30
Chlorazetophenon 1 : 5000	70,8	26,9	111,5	1,6fach	10
Akrolein 1 : 5000	72,4	65,4	154,4	2,4fach	5
Monobromazeton 1 : 5000	30,3	25,3	76,5	3,3fach	7
Bromzyan 1 : 80 000	62,0	44,0	109,0	1,5fach	5
Benzylbromid ges. Lösung	23,5	6,7	62,5	3,1fach	6
Xylylbromid ges. Lösung	35,2	21,7	74,2	3,1fach	6

* Mittelwert berechnet aus den Einzelversuchen.

hieraus klar, daß alle diese oxydationshemmenden Schmerzgifte in den angewandten Konzentrationen einen Nerven-Block erzeugen, der durch die Anode jeweils wieder aufgehoben werden kann. Nicht selten wurde die Leitfähigkeit noch 2 Std nach Eintreten des Blocks durch die Anode restituiert. Dagegen wird der Block auch hier bei kathodischer Polarisation schon vorzeitig manifest. Irgendwelche prinzipiellen Unterschiede gegenüber dem Block durch Kalium, Rubidium, Veratrin usw. sind bei diesen zahlreichen Versuchen nicht zu Tage getreten. Alle von uns geprüften Schmerzstoffe** unterbrechen also offenbar die Nervenleitfähigkeit im

** *Capsaicin* (7 Versuche mit einer Suspension dieses sehr wenig wasserlöslichen Stoffes im Verhältnis 1 :100 in RINGER-Lösung) erzeugte im Mittel nach 63,6 min einen Block, die Kathode wirkte schon nach 16,4 min leitungsunterbrechend, die Anode

Prinzip einheitlich durch Depolarisation. In Übereinstimmung damit wirkt Monobromazetat, das selbst in Konzentration 1 : 1000 bei intrakutaner Injektion keinen Schmerz verursacht[10, 11], innerhalb unserer Versuchszeiten auch am N. ischiadicus offenbar kaum depolarisierend: Konzentration 1 : 5000 beeinträchtigte bei einer Einwirkungsdauer bis zu $4^1/_2$ Std die Leitfähigkeit meist überhaupt nicht. Dagegen wird die Nervenleitung durch den schmerzwirksamen Äthylester der Monobromessigsäure[10, 11] ebenso rasch* wie durch die übrigen Schmerzstoffe unterbrochen.

NaCN, das ohne Schmerzwirkung ist[10, 11], erzeugt ebenfalls einen Nerven-Block (Makarov[26]). Bei Konzentration 1 : 4000 (6 Versuche) fanden wir im Mittel nach 63,8 min eine Leitungsunterbrechung. Die Kathode blockierte schon nach 42,5 min, die Anode restituierte im Mittel bis 79,7 min nach Giftzusatz. NaCN verhält sich also bei dieser Versuchsanordnung ähnlich wie ein Schmerzstoff, die restitutive Anodenwirkung (1,27fache anodische Verlängerung der Leitfähigkeit bei den Einzel-Versuchen) ist allerdings deutlich schwächer als bei den Atmungsgiften mit Schmerz-Effekt. Warum den Zyaniden eine Schmerzwirkung fast ganz fehlt, wird auch durch die vorliegenden Untersuchungen noch nicht befriedigend geklärt.

II. Das Versagen der Anode bei der Leitungsunterbrechung durch lokalanästhetische Substanzen.

(Versuche zusammen mit M. Jänner u. W. Mayer.)

Der Lokalanästhetikum-Block ist im Gegensatz zum Schmerzstoff-Block durch anodische Polarisation nicht aufzuheben. Diese Grundregel hat sich aus über 100 Versuchen mit Cocain, Novocain, Tutocain, Pantocain, Percain und Panthesin in verschiedenen Konzentrationen (jeweils in Ringer-Lösung von p_H 7) ergeben. Auch Parpanit, Antistin und Pyribenzamin, die ebenfalls von uns geprüft wurden, fügen sich dieser Regel entsprechend ihren lokalanästhetischen Eigenschaften ein. Die Lokalanästhetika gleichen hierin den Ca^{++}-Ionen, die nach Woronzow[35] und nach unseren eigenen Versuchen ebenfalls die Nervenleitung aufheben

---

hielt dagegen die Leitfähigkeit noch 90,0 min nach Zusatz des Schmerzstoffs aufrecht. *Bienengift* (17 Versuche mit Trockengift der Fa. Mack, Illertissen, in Konzentration 1 : 500—1 : 100000 in Ringer-Lösung) wurde in seiner Wirkung durch Anelektrotonus und Katelektrotonus schwach und nicht in allen Fällen deutlich beeinflußt: Bei Konzentration 1 : 1000 (5 Versuche) erlosch die Leitfähigkeit im Mittel nach 67,0 min, die Kathode blockierte schon nach 63,0 min, die Anode restituierte bis 73,0 min. Die entsprechenden mittleren Zeiten für Konzentration 1 : 100000 (6 Versuche) sind 84,2, 80,0 und 101,7 min. Auch die Angriffspunkte von Bienengift liegen in den Dehydrasen-Systemen des oxydativen Stoffwechsels (vgl. Fleckenstein, Tippelt u. Kroner[17]).

* Bei der neutralen Reaktion der Ringer-Lösung wird der Ester relativ schnell gespalten. Da dadurch wenig klare Versuchsbedingungen entstehen, wurde von einer größeren Versuchsreihe mit Monobromessigsäureäthylester am Nerven abgesehen.

können, ohne daß die Anode restituierend wirkt (vgl. Tab. 3). Auch Ca^{++}-Salze erzeugen Lokalanästhesie[10]; andererseits dichten Lokalanästhetika z. B. Novocain, Tutocain nach i. v. Injektion die Kapillaren ähnlich wie Ca^{++}-Salze ab. Dieser Effekt wurde von EICHHOLTZ u. VEIGEL* an der enthaarten Bauchhaut der Ratte mit der Saugmethode direkt nachgewiesen.

Tabelle 3. *Beeinflussung des Lokalanästhetikum-Blocks durch anodische und kathodische Polarisation* (87 Versuche).

Substanz	Konzentration	Mittlere Dauer der Leitfähigkeiten nach Zusatz der Lokalanästhetika			Anzahl der Versuche
		a) Normal Minuten	b) Kathode Minuten	c) Anode Minuten	
$CaCl_2$	0,76%	106,4	83,0	65,0	10
Cocain	1 : 100	15,0	5,0	12,5	2
	1 : 1000	61,0	22,0	40,0	5
Novocain	1 : 100	20,0	5,0	18,0	5
	1 : 1000	46,2	17,5	38,8	4
Tutocain	1 : 100	19,0	9,0	16,0	5
	1 : 2000	71,0	16,0	38,0	5
Pantocain	1 : 100	13,0	9,0	16,0	5
	1 : 2000	51,9	32,2	47,2	9
Percain	1 : 100	21,0	16,0	18,0	5
	1 : 2000	69,0	39,0	41,0	5
Panthesin	1 : 100	31,0	13,0	26,0	5
	1 : 1000	63,0	21,0	52,0	5
Antistin	1 : 100	55,0	37,0	40,0	5
	1 : 1000	156,6	120,0	85,0	3
Parpanit	1 : 100	25,0	17,5	18,8	4
Pyribenzamin	1 : 100	32,0	16,0	28,0	5

In den meisten Fällen führt die Anode schon vor Eintritt des eigentlichen Lokalanästhetikum-Blocks zur Leitungsunterbrechung. Nur in seltenen Fällen, z. B. bei einigen Versuchen mit Pantocain in stärkerer Konzentration (vgl. Tab. 3) konnte der Block noch für wenige Minuten durch die Anode überbrückt werden. Dies erklärt sich vermutlich daraus, daß stärkere Konzentrationen einiger Lokalanästhetika, z. B. auch Pantocain — wenigstens am Muskel (FLECKENSTEIN, WAGNER u. GÖGGEL[18]) — auch depolarisierende Wirkung haben können. Bei Versuchen mit „Psicain Neu" konnten wir ebenfalls in einigen Fällen eine kurzdauernde und unvollkommene Anoden-Restitution beobachten. Bei den meisten anderen lokalanästhetischen Stoffen trat ein derartiger Effekt niemals auf.

Die Kathode hatte dagegen in unseren Versuchen auf den Lokalanästhetikum-Block die gleiche verstärkende Wirkung wie auf den Block durch Schmerzstoffe (vgl. Tab. 3) und führte im allgemeinen noch früher

* Vgl. die zusammenfassende Übersicht von EICHHOLTZ über Lokalanästhetika und anderer Pharmaka mit Membran-Wirkung[5].

als die Anode zur Leitungsunterbrechung; nur beim Ca^{++}-Block und bei Versuchen mit Antistin in Konzentration 1 : 1000 wurde die Leitfähigkeit durch anodische Polarisation schneller als durch kathodische Polarisation aufgehoben.

Nach Woronzow[35] soll die Kathode beim Block durch $CaCl_2$ unter Umständen die Leitfähigkeit wieder herstellen. Der Autor betont jedoch, daß diese Wirkung nicht so voll und deutlich hervortrete, wie die der Anode im Falle des Kaliums, von kurzer Dauer sei und nur bei einer bestimmten Stromstärke zur Beobachtung komme; geringere Ströme seien wirkungslos, stärkere hemmten. Wir selbst konnten jedoch auch beim Ca^{++}-Block nur eine Hemmung durch die Kathode finden.

Charakteristisch beim Kalzium- und Lokalanästhetikum-Block ist also allein das Versagen der Anode; dies zeigt, daß die Leitungsunterbrechung — im Gegensatz zum Block durch Schmerzstoffe — nicht durch Depolarisation bedingt ist.

III. Die Aufhebung des Veratrin-Blocks durch Lokalanästhetika.*

(Versuche zusammen mit G. Kraus u. E. Geissler.)

Nach unseren früheren Ergebnissen am Muskel ist der Grundmechanismus der Erregungshemmung durch Lokalanästhetika in einer Verhinderung der Depolarisation zu erblicken; demnach wäre der Lokalanästhetikum-Block des Nerven nicht nur anders als der Schmerzstoff-Block, sondern sogar durch einen diametral entgegengerichteten Mechanismus verursacht. Die Vermutung lag daher nicht allzu ferne, daß sich unter Umständen Schmerzstoffe und Lokalanästhetika in ihren leitungsunterbrechenden Effekten neutralisieren könnten.

Der Zitrat-, Oxalat-, Allylsenföl- und Chlorazetophenon-Block ließ sich nun in diesen Versuchen durch Novocain bzw. Tutocain niemals durchbrechen. Auch gegenüber der depolarisierenden Kalium-Wirkung sind Lokalanästhetika — entsprechend den Verhältnissen beim Muskel — keine wirksamen Antagonisten. Nach Kochmann[25] wird die Lokalanästhetikum-Wirkung auf die Leitfähigkeit des N. ischiadicus durch Kalium-Salze sogar verstärkt. Dagegen ließ sich bei der Kombination Veratrin-Lokalanästhetikum ein Antagonismus zwischen der Schmerzstoff- und der Lokalanästhetikum-Wirkung mit außerordentlicher Klarheit demonstrieren: *Der durch Depolarisation erzeugte Veratrin-Block wird durch Lokalanästhetika nicht weiter verstärkt, sondern nach einer Latenzzeit von etwa 4—10 min wieder beseitigt.*

In Abb. 3 ist ein Versuch im einzelnen wiedergegeben: Bei Beginn liegen die Reizschwellen für den Nerven in Ringer-Lösung bei 15,5 cm Rollenabstand (17 cm bei kathodischer, 12,4 cm bei anodischer Polarisation). 5 min später wird die Ringer-Lösung gegen eine Veratrin-Ringer-Lösung (Konzentration 1 : 1000) ausgewechselt. Nach 25 min Versuchsdauer sinkt die Leitfähigkeit steil ab und nach 27 min

* Eine vorläufige Mitteilung erfolgte in der Klin. Wschr. **28**, 452 (1950).

Versuchsdauer ist der Veratrin-Block vollständig. Die Kathode hebt die Leitfähigkeit schon nach 23 min auf, die Anode wirkt dagegen — wie üblich — weiterhin restituierend. 5 min nach Eintritt des Veratrin-Blocks (32 min Versuchsdauer) wird die Veratrin-Ringer-Lösung 1 : 1000 gegen eine neue Veratrin-Ringerlösung 1 : 1000 ausgewechselt, die noch zusätzlich Novocain in Konzentration 1 : 1000 enthält. Nach 8 min Latenzzeit (40 min Versuchsdauer) wird der Veratrin-Block durch den

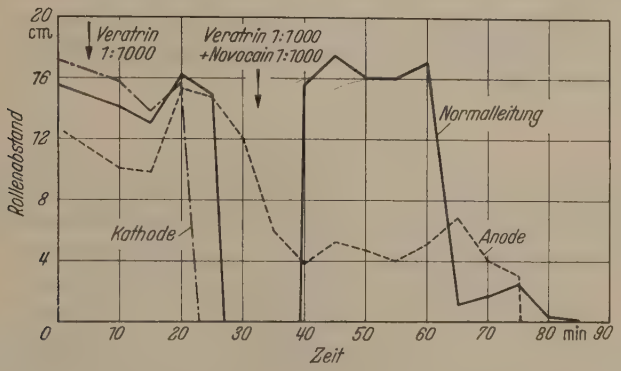


Abb. 3. *Aufhebung des Veratrin-Blocks durch Novocain.*

Novocain-Zusatz wieder aufgehoben. Bis 60 min Versuchsdauer liegen die Reizschwellen sogar etwas über dem Ausgangsniveau; bei kathodischer Polarisation bleibt der Nerv jedoch auch weiterhin leitungsunfähig. Nach 75 min erlischt die restitutive Wirkung der Anode, erst nach 85 min Versuchsdauer wird der Nerv für die normale Leitung ganz undurchgängig. Die Dauer der normalen Leitfähigkeit beträgt in diesem Versuch (nach Beginn der Einwirkung von Veratrin 1 : 1000) *ohne* Lokalanästhetikum-Zusatz nur 22 min, *mit Hilfe des Novocain-Zusatzes* jedoch 80 min, d. h. das 3,6fache!

Tabelle 4. *Aufhebung des Veratrin-Blocks durch Lokalanästhetika** (72 Versuche).

Lokalanästhetikum-Zusatz in die Veratrin-Lösung	Mittlere Latenzzeit bis Aufhebung des Veratrin-Blocks Minuten	Dauer der Leitfähigkeit (Mittelwerte)		Verlängerung der Leitfähigkeit durch das Lokalanästhetikum	Anzahl der Versuche
		Veratrin 1 : 1000 *ohne* Lokalanästhet. Minuten	Veratrin 1 : 1000 *mit* Lokalanästhetik. Minuten		
Novocain 1 : 1000	7,9	16,0	53,0	3,7fach	19
Tutocain 1 : 2000	7,8	17,2	57,0	3,9fach	18
Pantocain 1 : 5000	7,3	21,2	63,7	3,1fach	12
Larocain 1 : 5000	8,0	15,0	62,3	4,6fach	12
Psicain „Neu“ 1 : 5000	6,6	31,6	70,0	2,5fach	6
Panthesin 1 : 2000 bzw. 1 : 5000	8,6	25,0	102,0	4,1fach	5

* Veratrin-Konzentration jeweils 1 : 1000 in Ringer-Lösung. Lokalanästhetikum-Zusatz 1—11 min (Mittel 3,5 min) nach Eintritt des Veratrin-Blocks.

Einen Überblick über 72 Versuche, in denen der Veratrin-Block mit Novocain, Tutocain, Pantocain, Larocain, Psciain „Neu" und Panthesin* wieder ausgelöscht werden konnte, gibt Tab. 4. Nur etwa jeder 10. Versuch ließ eine solche restitutive Lokalanästhetikum-Wirkung vermissen. *Lokalanästhetika können also nicht nur die Nervenleitung unterbrechen, sondern unter Umständen auch wiederherstellen. Eine solche „paradoxe" Lokalanästhetikum-Wirkung war bisher nicht bekannt und wird nur aus der — dem Veratrin entgegengerichteten — Potential-Beeinflussung durch Lokalanästhetika verständlich.*

Besprechung.

a) Die Natur des Schmerzstoff- und Lokalanästhetikum-Blocks.

Die Elektrophysiologie (vgl. Schaefer[28]) kennt im Kathoden- und Anoden-Block 2 diametral entgegengesetzte Möglichkeiten die Leitfähigkeit des Nerven aufzuheben: Beim Kathoden-Block ist das Membran-Potential der betroffenen Nervenstrecke soweit entladen, daß eine zusätzliche Depolarisation durch eine ankommende Erregungswelle nicht mehr möglich ist. Beim Anoden-Block läuft dagegen die Erregungswelle in einen Bezirk hinein, der infolge Stabilisierung des Membran-Potentials über die Norm nicht mehr depolarisiert werden kann. In beiden Fällen kommt daher die Erregungswelle zum Erlöschen. *Es ist schon mehrfach betont worden* (Fleckenstein), *daß der Block durch depolarisierende Schmerzstoffe (Katelektrotonica**) dem Kathoden-Block entspricht*[10, 12], *während der Block durch Kalzium und Lokalanästhetika (Anelektrotonika) mit dem Anoden-Block*[9, 10, 12, 15, 18] *vergleichbar sei.* Auch die vorliegenden Befunde stehen mit dieser Auffassung in guter Übereinstimmung.

Kalium- und Rubidium-Ionen wirken am Muskel (Höber[23]) und Nerv (Netter[27]) im Gegensatz zu den nicht-schmerzerregenden Natrium- und Lithium-Ionen depolarisierend. Ca^{++}-entionisierende Stoffe und Veratrin verursachen am Frosch-Nerven ebenfalls Depolarisation (Shanes[30]). Auch an den Riesenfasern des Tintenfisches[31] hat Veratrin in Konzentration 1 : 20000 starke depolarisierende

* Perkain, Parpanit und $CaCl_2$ erwiesen sich für die Wiederherstellung der durch Veratrin unterdrückten Leitfähigkeit als ungeeignet. Auch die Umkehr der Versuchsanordnung, d. h. die Anwendung von Veratrin zur Aufhebung eines Lokalanästhetikum-Blocks führte bisher zu keinem eindeutig positiven Ergebnis.

** Auch die Kathode hat bei Gleichstrompolarisation der menschlichen Haut Schmerz- und Entzündungs-Effekte [vergl. Ebbecke, Pflügers Arch. **199**, 197 (1923)]. Eine kleinflächige, auf die Haut des Unterarms aufgesetzte Kathode (Metallnadel) ruft z. B. schon nach einigen Sekunden einen insektenstich-ähnlichen Schmerz hervor. Selbst bei frühzeitiger Abschaltung des Stromes bildet sich dann eine Quaddel aus und die ganze Umgebung wird hyperämisch. Fließt der Strom dagegen in der umgekehrten Richtung (Metallnadel als Anode), so treten keine Schmerzwirkungen und in der Regel auch keine sichtbaren Gefäßreaktionen ein. Eine lokalanästhetische Wirkung der Anode konnten wir bei dieser Versuchsanordnung nicht nachweisen.

Effekte; beim Krabben-Nerven[32] wurde durch Veratrin schon in Konzentration 1 : 1 Million ein rascher Potential-Verlust von mehreren mVolt hervorgerufen. Am Frosch-Rectus entspricht die Stärke der Veratrin-Depolarisation in Konzentration 1 : 2000 nach eigenen Messungen[18] fast einer isotonischen KCl-Lösung. Die Wirkung der oxydations-hemmenden Schmerzgifte auf das Membran-Potential ist in Abschnitt c besprochen.

Unsere Untersuchungen zeigen nun, daß diese depolarisierende Wirkung der Schmerzstoffe für die Leitungsunterbrechung entscheidend ist und die den Schmerzstoffen gemeinsame Grundwirkung darstellt: Der Schmerzstoff-Block wird daher durch die repolarisierende Anode wieder aufgehoben, während die Kathode den Block verstärkt.

Ganz anders liegen die Verhältnisse beim Kalzium- und Lokalanästhetikum-Block: Hier zeigt das Fehlen einer restitutiven Anoden-Wirkung, daß die Leitungsunterbrechung nicht auf Depolarisation beruht.

Dementsprechend fanden Bennett und Chinburg[1], wie bereits erwähnt, beim Lokalanästhetikum-Block des Frosch-Ischiadicus keine Depolarisation; auch bei den Riesenfasern des Tintenfischs verursacht Novocain und Kokain in 0,1—1%iger Lösung Leitungsunterbrechung, ohne daß sich dabei das Potential der blockierten Stelle ändert (Shanes[31]). Diese Befunde stehen in völliger Übereinstimmung mit den von uns am Muskel gewonnenen Ergebnissen, nach denen Lokalanästhetika die Fasern im elektrisch aufgeladenen Ruhezustand fixieren und so gegenüber zahlreichen depolarisierenden, d. h. erregenden Einflüssen unangreifbar machen (Fleckenstein[9, 10, 12]; Hardt u. Fleckenstein[21]; Fleckenstein u. Hardt[15]; Fleckenstein, Wagner u. Göggel[18]).

Diesen stabilisierenden und erregbarkeits-hemmenden Einfluß auf die Membranen haben die Lokalanästhetika mit den Ca^{++}-Ionen und der Anode gemeinsam. *Daß die Lokalanästhetika auch am Nerven der Depolarisation entgegenwirken, geht am deutlichsten aus ihrer Fähigkeit hervor, einen Veratrin-Block wieder aufzuheben.* Lokalanästhetika können also die Nervenleitung — in Analogie zur Anode — nicht nur unterbrechen, sondern unter Umständen auch restituieren.

Auf die noch bestehenden Unklarheiten hinsichtlich der Kathoden-Wirkung auf den Kalzium-Block ist S. 424 schon verwiesen; Unterschiede zwischen der Wirkung der Anode und der Lokalanästhetika sind S. 428 bzw. 430 behandelt.

b) Die Rolle der K^+-Ionen bei der Membran-Depolarisation.

Als Ursache des Membran-Potentials von Nerv und Muskel wird heute allgemein der steile Konzentrations-Gradient der K^+-Ionen innerhalb der Membran — vom Zellinnern nach außen — angesehen, dem ein ebenso steiler Gradient der Na^+-Ionen von außen nach innen entgegensteht. Im polarisierten Zustand ist die äußere Oberfläche der Membranen offenbar von einer Schicht adsorbierter Na^+-Ionen bedeckt. Werden diese Na^+-Ionen durch K^+-Ionen verdrängt, so sinkt die Steilheit dieses Gradienten innerhalb der Membran und damit das Membran-Potential ab. Dies

dürfte ganz allgemein die eigentliche Ursache jeder Depolarisation sein[14, 16]. Die zu dieser Ionen-Verschiebung führenden Mechanismen sind jedoch verschieden:

a) Bei Einlegen des Nerven oder Muskels in ein K^+-reiches Milieu werden die Na^+-Ionen von außen aus der Membran verdrängt.

b) Bei der Depolarisation durch die Kathode werden K^+-Ionen des Zellinnern auf elektrischem Wege nach außen übergeführt.

c) Bei der Depolarisation im Aktionsstrom treten die K^+-Ionen (im Austausch gegen Na^+) in der Umgebung des — für die erregte Stelle charakteristischen — Membranlecks nach außen über[28]. (Neue Ergebnisse am Nerven mit radioaktivem K^{42} und Na^{24} vgl. Keynes[24].)

d) Für die verstärkten K^+-Austritte (und Na^+-Eintritte) bei Kalzium-Entzug am Nerven (Fenn[6]) bzw. bei der Depolarisation durch Veratrin ist wohl — wie in den meisten anderen Fällen — die Erhöhung der Membran-Permeabilität entscheidend.

e) Bei der Depolarisation durch oxydationshemmende Schmerzstoffe liegt die Ursache offenbar in einem Versagen der intrazellulären K^+-Fixation.

Im Gegensatz dazu erklärt sich die Hemmung der Depolarisation durch Lokalanästhetika nach unseren früheren Versuchen[9, 15, 21] aus einer Hemmung des K^+-Übertritts infolge Dichtung der Membran. Es wird hieraus verständlich, daß Lokalanästhetika gegenüber der Depolarisation nach Modus a) nicht sehr wirksam sind; die Herabsetzung der Permeabilität durch Lokalanästhetika und die Erniedrigung des K^+-Gradienten durch K^+-Applikation von außen können sich vielleicht sogar in ihren erregbarkeits-hemmenden Effekten addieren. Hinweise hierfür ergeben sich aus den Beobachtungen von Kochmann[25] über Verstärkung der leitungsunterbrechenden Lokalanästhetikum-Wirkung am N. ischiadicus des Frosches durch K^+-Salze. Dagegen sind Lokalanästhetika in denjenigen Fällen sehr wirksame Antagonisten der Depolarisation, wo als Ursache eine einfache Permeabilitäts-Erhöhung [Modus c) und d)] anzunehmen ist.

c) Die Abhängigkeit des Membran-Potentials vom Stoffwechsel.

Schon in früheren Untersuchungen am Muskel[7, 9] ist darauf hingewiesen worden, daß die hohen Ungleichgewichte zwischen extra- und intrazellulären K^+- und Na^+-Ionen nur durch dauernde Energiezufuhr aufrechterhalten werden können. Jede Beeinträchtigung des desmolytischen Stoffabbaues wird daher zwangsläufig zu einem Absinken der hohen Gradienten für K^+ bzw. Na^+ in der Membran führen und damit letzten Endes depolarisierend wirken. In Übereinstimmung damit sinkt das Nerven-Potential bei Anoxie ab und regeneriert sich wieder rasch bei O_2-Zufuhr[19, 20, 31, 32]. Am Krabben-Nerven ist neuerdings von Shanes[34]

der Nachweis erhöhter K^+-Austritte bei Anoxie und einer Rückbindung von K^+ bei der oxydativen Restitution des Potentials erbracht worden.

Die oxydations-hemmenden Schmerzstoffe Allylsenföl, Akrolein, Chloracetophenon, Monobromazeton, Bromzyan, Benzylbromid, Xylylbromid sind offenbar die stärksten bisher bekannten Inhibitoren der elektrischen Wiederaufladungs-Prozesse an Nerv und Muskel (vgl. Fleckenstein, Brose, Canis u. Förderer[14]). Die Angriffspunkte dieser Gifte liegen im wasserstoff-aktivierenden Anteil des oxydativen Zellstoffwechsels: Die Dehydrierung von Milchsäure, Brenztraubensäure, Zitronensäure, α-Ketoglutarsäure, Bernsteinsäure, Oxalessigsäure im Muskelbrei wird durch diese Substanzen noch in 100 000facher Verdünnung beeinträchtigt[10, 11, 13]. Die Wirkung auf den sensiblen Nerven und die Hemmung der Repolarisation nach Kalium-Applikation am Muskel (M. rectus des Frosches) setzt dabei meist in den gleichen Grenzkonzentrationen wie die Dehydrasenhemmung ein[13]. *Diese Befunde weisen darauf hin, daß den wasserstoffaktivierenden Ferment-Systemen für die Aufrechterhaltung und Regeneration der Membran-Potentiale — d. h. auch für die Rückführung von K^+ gegen den Konzentrations-Gradienten — offenbar die Hauptbedeutung zukommt*.*

Sehr auffällig sind in unseren Versuchen die geringen hemmenden Effekte von Monobromazetat auf die Nervenleitung. In Übereinstimmung damit stehen Beobachtungen am Krabben-Nerven mit Monojodazetat; hier war in Versuchen von Shanes[32] nach 2stündiger Einwirkung von 1 mMol Jodazetat/Liter die Höhe des Nerven-Aktionsstroms noch unverändert, erst nach 5 Std trat eine gewisse Reduktion ein. Die Messung der Ruhe-Potentiale ergab dabei nach 2½ Std Monojodazetat-Vergiftung eine Abnahme von 21%, nach 5 Std 37% und nach 15 Std 84% bezogen auf das Ausgangs-Potential. Am Frosch-Nerven kann dieser langsame Potential-Abfall durch Laktat und Pyruvat[33] verhindert werden; dies zeigt, daß in erster Linie die Verarmung an oxydablen Spaltprodukten bei der Monojodessigsäure-Vergiftung entscheidend ist. Aber auch der glykolytische Stoffwechsel an sich kann zur Erhaltung der Potentiale etwas beitragen; so wird die Depolarisation des Frosch- und Krabben-Nerven bei Anoxie durch Erhöhung der Glukose-Konzentration des Mediums abgeschwächt (Shanes[32]); gleichzeitig damit nehmen die K^+Austritte ab (Shanes[34]).

d) Das Wesen der restitutiven Anoden-Wirkung.

Die repolarisierende Anode stellt nach unseren Versuchen die Nervenleitung auch nach Blockierung durch schmerzerregende Gifte der Zellatmung augenblicklich wieder her. Dieser Effekt zeigt:

* Diese Befunde gewinnen im Lichte der Netterschen Theorie über den Mechanismus der intrazellulären K^+-Akkumulation (Aufnahme von extrazellulärem K^+ im Austausch gegen intrazelluläres, durch den sauren Stoffwechsel produziertes H^+) eine besondere Bedeutung: Es ergibt sich nämlich die neue Frage, ob nicht in ähnlicher Weise die Wasserstoff-Verschiebungen über die Dehydrasen-Systeme zum Cytochrom der K^+-Akkumulation dienen könnten (vgl. Netter: Pflügers Arch. **220**, 107 [1928]; **234**, 680 [1934]).

a) daß nach Vergiftung des oxydativen Stoffwechsels die Entladung des elektrischen Membran-Potentials zunächst als die entscheidende Ursache der Leitungs-Unterbrechung gelten muß; erst nach Erlöschen der restitutiven Anodenwirkung wird die Schädigung tiefergreifend.

b) daß die Anode nach Vergiftung des oxydativen Stoffwechsels mit der Wiederherstellung des Membran-Potentials eine Funktion übernimmt, die sonst den Atmungs-Prozessen zufällt.

Stoffwechsel und Anode sind also Synergisten. Schon Hering[22] und ähnlich Bernstein[2] (1888) haben betont, daß der Anelektrotonus „*mit einem Vorgang beständiger Assimilierung*" verbunden sei, während im Katelektrotonus der entgegengesetzte Prozeß Platz greife (vgl. hierzu Biedermann[3]). Eine befriedigende Präzisierung dieses — durch Katelektrotonus zu entladenden und durch Anelektrotonus aufzuladenden — Energiespeichers war damals noch nicht möglich. Eine zwanglose Erklärung ergibt sich jedoch heute aus der von mir[7, 9, 16] vertretenen Theorie, nach der die im Faserinnern selektiv akkumulierten K^+-Ionen den primären Energiespeicher für Nerv und Muskel darstellen: *Die Kathode hat einen dieser* K^+*-Stapelung entgegengerichteten Effekt*; denn sie setzt K^+-Ionen in Richtung ihres Diffusions-Gefälles aus dem Faserinnern frei. Dabei tritt, wie bereits näher besprochen, Depolarisation und Erregung ein. *Die Wirkung der Anode ist dagegen der* K^+*-stapelnden Funktion des Zellstoffwechsels gleichgerichtet;* denn die Anode drängt die K^+-Ionen — entgegen ihrer Diffusions-Tendenz — ins Faserinnere zurück und führt dafür Na^+-Ionen wieder von außen in die Membran-Oberfläche[9, 14, 16] ein. Dadurch wird das Membran-Potential nach einer Depolarisation wieder hergestellt und die K^+-Abgabe — als Grundprozeß der Erregung — erschwert bzw. ganz blockiert. Die Anode lädt also den primären physikalisch-chemischen Energiespeicher der Nerven- und Muskel-Funktion unter Umständen auch nach Ausfall des Stoffwechsels wieder auf, während die Kathode diesen Energiespeicher entlädt.

Die bekannte Zunahme der Membran-Permeabilität bzw. Leitfähigkeit im Katelektrotonus (vgl. Ebbecke[4]) ist offenbar sekundär durch den Einstrom von gut beweglichen K^+-Ionen in die Membran bedingt, während die Leitfähigkeits-Abnahme unter der Anode durch die — in der Membran schlecht beweglichen — Na^+-Ionen verursacht sein dürfte. Die Tatsache, daß Erschöpfung, Schädigung, Anoxie usw. die Membranen auflockert, während die Anode wieder dichtet, ist bisher meist für eine Erklärung der restitutiven Anoden-Wirkung herangezogen worden. Die vorliegende Betrachtung zeigt jedoch, daß präzisere Aussagen möglich uud nötig sind:

Die Anode hemmt nicht nur die K^+*-Abgabe der Fasern durch einen Dichtungs-Effekt an den Membranen — so wie etwa die* Ca^{++}*-Ionen und lokalanästhetische Substanzen —, sondern verschiebt die* K^+*-Ionen aktiv gegen ihr Gefälle zurück.* Hieraus erklärt sich wohl, daß die Anode viel stärkere und umfassendere repolarisierende Wirkungen ausüben kann

als Ca^{++}-Ionen und Lokalanästhetika. *Unsere Befunde stehen in Übereinstimmung mit der Grundvorstellung, daß die Hauptfunktion des oxydativen Betriebs-Stoffwechsels der Nervenfaser in der dauernden Regeneration des Membran-Potentials besteht, das sich dann bei Erregung in Form von Aktionsströmen — unter Austausch von K^+ und Na^+ in Richtung des Gefälles — wieder entlädt.* Diese elektrische Theorie der Erregung und Erregungsleitung im Nerven (Strömchen-Theorie, vgl. SCHAEFER[28]) kann, wie die mitgeteilten Ergebnisse zeigen, gerade durch die leitungsunterbrechenden Pharmaca eine wesentliche Stütze erhalten.

Zusammenfassung.

1. Schmerzstoffe (K^+, Rb^+, Natrium-Zitrat, -Oxalat, -Fluorid, Veratrin) versetzen die sensiblen Nervenfasern wahrscheinlich durch Depolarisation in Erregung. Auch die hochaktiven atmungshemmenden Schmerzgifte (Allylsenföl, Akrolein, monohalogenierte Ketone, Chloracetophenon, Benzylbromid, Xylylbromid, Halogenzyane) wirken nach unseren Befunden in dieser Weise durch Entladung des Membran-Potentials.

2. In stärkerer Konzentration heben die schmerzerregenden Substanzen durch Depolarisation die Leitfähigkeit der Nervenfasern auf. Dieser Schmerzstoff-Block entspricht dem Kathoden-Block der Elektrophysiologie: Bei Wiederherstellung des Membran-Potentials von außen im Anelektrotonus wird daher der Schmerzstoff-Block augenblicklich wieder beseitigt; die Kathode hat dagegen verstärkende Effekte.

3. Der Einfluß der Lokalanästhetika auf das Membran-Potential ist den Schmerzstoffen entgegengesetzt; Lokalanästhetika unterbrechen die Nervenleitung durch Verhinderung der Depolarisation und fixieren die Nervenfasern im aufgeladenen Ruhezustand. Der Lokalanästhetikum-Block ist hierin dem Anoden-Block ähnlich und kann daher — im Gegensatz zum Schmerzstoff-Block — durch anodische Polarisation nicht aufgehoben werden.

4. Nach Leitungsunterbrechung durch Veratrin treten die diametral entgegengesetzten Mechanismen des Schmerzstoff-Blocks und des Lokalanästhetikum-Blocks am deutlichsten in Erscheinung: Der durch Depolarisation erzeugte Veratrin-Block wird durch Lokalanästhetika wieder beseitigt. Derartige restitutive Effekte der Lokalanästhetika auf die Nervenleitfähigkeit waren bisher unbekannt.

5. Die depolarisierende Kathode setzt K^+ in Richtung des Konzentrations-Gefälles aus dem Faser-Innern frei und verdrängt Na^+ aus den Membran-Oberflächen der Nervenfasern. Die gleiche Ionenverschiebung liegt offenbar der Depolarisation durch die meisten Schmerzstoffe zugrunde. Lokalanästhetika hemmen dagegen die Depolarisation durch Hemmung der K^+-Freisetzung.

6. Die repolarisierende Anode verschiebt K^+ gegen den Konzentrations-Gradienten wieder ins Faser-Innere zurück und führt von außen Na^+ in die Membran-Oberflächen ein; sie lädt dadurch den — in der selektiven K^+-Akkumulation der Faser begründeten — „primären" Energie-Speicher wieder auf. Die Anoden-Wirkung ist der repolarisierenden, K^+-stapelnden Funktion des oxydativen Nerven-Stoffwechsels gleichgerichtet.

7. Bei der Depolarisation durch oxydations-hemmende Schmerzgifte ist ein Versagen der K^+-stapelnden Mechanismen als Ursache anzunehmen. Da diese Gifte alle im Dehydrasen-Anteil des oxydativen Stoffwechsels angreifen, ist eine besonders enge Verknüpfung der wasserstoff-aktivierenden und der repolarisierenden, K^+-bindenden Stoffwechsel-Prozesse wahrscheinlich.

Literatur.

[1] Bennett, A. L., u. K. G. Chinburg: J. of Pharmacol. **88**, 72 (1946). — [2] Bernstein, J.: Untersuch. aus dem Physiol. Inst. Halle I. Heft (1888). — [3] Biedermann, W.: Elektrophysiologie, S. 713 u. ff. Jena 1895. — [4] Ebbecke, U.: Pflügers Arch. **195**, 555 (1922). — Erg. Physiol. **35**, 756 (1933). — [5] Eichholtz, F.: Klin. Wschr. **28**, 761 (1950). — [6] Fenn, W. O.: Science Suppl. **79**, 16 (1934). — [7] Fleckenstein, A.: Pflügers Arch. **246**, 411 (1942). — [8] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 151 (1944). — [9] Fleckenstein, A.: Pflügers Arch. **250**, 643 (1948). — [10] Fleckenstein, A.: Die periphere Schmerzauslösung u. Schmerzausschaltung. Frankfurt/Main: Verlag Dr. Dietrich Steinkopff 1950. — [11] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 189 (1949); vgl. auch Naturforsch. u. Med. in Deutschl. 1939—46, Bd. 63; F. Eichholtz: Pharmakologie u. Toxikologie, Teil 3, S. 147—153. — [12] Fleckenstein, A.: Klin. Wschr. **28**, 452 (1950); Verh. Dtsch. Pharmakol. Ges. 17. Tagg. Bad Nauheim April 1950, siehe Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 54 (1951). — [13] Fleckenstein, A., u. W. Berg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 184 (1951). — [14] Fleckenstein, A., W. Brose, H. I. Canis u. A. Förderer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 235 (1950). — [15] Fleckenstein, A., u. A. Hardt: Klin. Wschr. **27**, 360 (1949). — [16] Fleckenstein, A., u. H. Hertel: Pflügers Arch. **250**, 577 (1948). — [17] Fleckenstein, A., H. Tippelt u. H. Kroner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 380 (1950). — [18] Fleckenstein, A., E. Wagner u. K. H. Göggel: Pflügers Arch. **253**, 38 (1950). — [19] Furusawa, K.: J. of Physiol. **67**, 325 (1929). — [20] Gerard, R. W.: Amer. J. Physiol. **92**, 498 (1929). — [21] Hardt, A., u. A. Fleckenstein: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 39 (1949). — [22] Hering, E.: Zur Theorie d. Vorgänge i. der lebenden Substanz „Lotos" IX, Prag 1888, vgl. Biedermann[3]. — [23] Höber, R.: Physik Chem. d. Zelle u. d. Gewebe, Leipzig 1926; bzw. Bern: Verlag Stämpfli & Co. 1947. — [24] Keynes, R. D. J. of Physiol. **107**, 35 P (1948); **109**, 13 P (1949). — [25] Kochmann, M., u. L. Zorn: Z. exper. Path. u. Ther. **12**, 529 (1913). — [26] Makarov, P.: zit. nach Ber. Physiol. Bd. **43**, S. 222. — [27] Netter, H.: Pflügers Arch. **218**, 310 (1928). — [28] Schaefer, H.: Elektrophysiologie I, Wien 1940. — [29] Shanes, A. M.: Amer. J. Physiol. **153**, 93 (1948). — [30] Shanes, A. M.: Biol. Bull. **95**, 245 (1948). — [31] Shanes, A. M.: J. gen. Physiol. **33**, 57 (1949). — [32] Shanes, A. M.: J. gen. Physiol. **33**, 75 (1949). — [33] Shanes, A. M., u. D. E. S. Brown: J. Cell. and Comp. Physiol. **19**, 1 (1942). — [34] Shanes, A. M.: J. gen. Physiol. **33**, 643 (1950). — [35] Woronzow, S. D.: Pflügers. Arch. **203**, 300 (1924); **207**, 279 (1925).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 433—439 (1951).

Aus dem Institut für animalische Physiologie der Universität Frankfurt a. M.

Die Verwendung des Vagusschlingenhundes für die Wertbestimmung hustenstillender Substanzen.

Von
WILHELM SCHROEDER.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. September 1950.)

Für die Wertbestimmung von Hustenmitteln im Tierexperiment stehen einige Verfahren zur Verfügung, bei denen aber die sichere Auslösung eines gleichmäßigen Hustenreizes methodisch ziemlich schwierig ist.

Von ERNST wurde ein Verfahren an Katzen angegeben, welche nach artefizieller Pleuritis beim Zug an der Trachea eine verstärkte Hustenneigung zeigen. Nach der Methode von EICHLER und SMIATEK wird der Hustenreiz beim Meerschweinchen durch Einatmen eines Schwefelsäureäorosols erzeugt. Kürzlich wurde von KROEPFLI ein Verfahren an der narkotisierten Katze angegeben, bei der der Hustenreiz durch Einblasen einer geringen Menge eines Reizpulvers auf die Teilungsstelle der Trachea ausgelöst wird.

Neben der Schwierigkeit, immer die gleichen Reizbedingungen einzuhalten, sind alle diese Methoden ziemlich eingreifend und schädigend für die Tiere, die deshalb nur für wenige Versuche benutzt werden können. Untersuchungen an narkotisierten Tieren (KROEPFLI) sind besonders ungeeignet, weil durch eine Narkose die Funktion vegetativer Reflexe und besonders der Hustenreflexe in stärkstem Maße verändert wird (WEZLER und THAUER[2], SCHROEDER und ANSCHÜTZ).

Eine Methodik für die Wertbestimmung von Hustenmitteln sollte deshalb nach Möglichkeit 3 Forderungen erfüllen:

1. Die Untersuchung soll am wachen Tier erfolgen.
2. Der Hustenreiz soll genau dosierbar sein.
3. Das Tier soll durch die Untersuchung nicht geschädigt werden.

Diese 3 Bedingungen lassen sich unseres Erachtens bei Verwendung von Vagusschlingenhunden erfüllen. Es handelt sich um Hunde, bei denen der N.Vagus des Halses einer (oder beider) Seiten operativ in einen Hautschlauch verlagert worden ist. Die in *einer* derartigen Schlinge verlaufenden afferenten Hustenfasern können am wachen Tier durch einen in seiner Form und Stärke genau dosierbaren elektrischen Reiz erregt werden. Die elektrische Reizung der Vagusschlinge bietet damit ein bequemes Verfahren zur Auslösung von Hustenreflexen.

Operation der Vagusschlinge.

Die Operation entspricht im Prinzip derjenigen der Karotisschlinge (WEZLER und THAUER[1]) und muß wie diese unter streng aseptischen Bedingungen vorgenommen werden, weil die Tiere bei einer entzündlichen Reizung der Vagusschlinge durch gehäuftes Erbrechen zugrunde gehen.

Der erste Hautschnitt wird in der Mittellinie ausgeführt. Er ist 7 cm lang und beginnt am unteren Rande des Schildknorpels. Der zweite Hautschnitt läuft dem ersten in einem Abstand von 3—3,5 cm links oder rechts seitlich über 5 cm parallel, endet aber kranial und kaudal bogenförmig, wie in der Abb. 1 angegeben. Durch den Bogenschnitt werden 2 „Zwickel" gebildet, die später unter der gebildeten Schlinge eingeschlagen werden. Dann wird die Hautbrücke zwischen den beiden parallelen Schnitten einschließlich der Zwickel von der Subcutis gelöst und durch einen breiten,

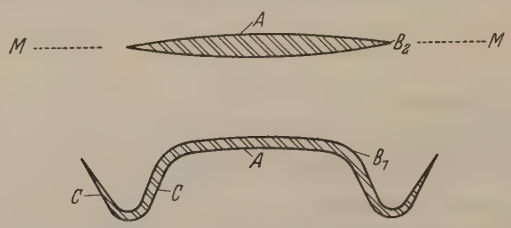


Abb. 1. Schnittführung bei der Vagusschlingenoperation. Die Subkutis, welche infolge des Auseinanderklaffens der Wundränder sichtbar wird, ist gestrichelt gezeichnet. *M . . . M* Mittellinie des Halses. *A* wird an *A*, B_1 unter der hochgehobenen Hautbrücke an B_2 und *C* an *C* angenäht.

mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Gazestreifen lateralwärts gezogen. Nach Durchtrennung der oberflächlichen Muskeln und Fascien des Halses präpariert man zwischen den M. sternocleidomastoideus und M. sternohyoideus stumpf in die Tiefe, bis die Gefäßnervenscheide mit der A. carotis und dem N. vagus in einem Bereich von 10 cm frei liegt. Nun wird der Nerv in dem ganzen Bereich von 10 cm bis an die Teilungsstelle für den Abgang der A.thyreoidea sup. aus der Scheide herausgelöst und zur Hautbrücke in den Gazestreifen hereingenommen. Der Nerv muß über eine ausreichende Strecke freipräpariert werden, damit er bei der folgenden Verlagerung nicht zu stark gezerrt wird.

Der anschließende Wundverschluß erfolgt schichtweise und mit solcher Sorgfalt, daß Nachblutungen und damit Druckschädigungen durch Hämatome vermieden werden. Zunächst wird der Muskelspalt durch 5 versenkte Katgutnähte wieder verschlossen. Dabei ist besonders darauf zu achten, daß die Stelle des Nervendurchtrittes nicht zu eng und nicht zu weit wird. Die letzte Muskelnaht soll etwa 1 cm vom Nerven entfernt sein. Diese Nahtstelle muß besonders gut versenkt werden, um eine Druckschädigung des Nerven durch das Nahtmaterial zu vermeiden. Bevor der Muskelspalt verschlossen wird, ist es zweckmäßig, einen etwa 1 cm breiten Streifen des medialen Randes des M. sternocleidomastoideus zu entfernen. Hierzu klemmt man ein entsprechendes Stück des mittleren Muskelrandes in 2 scharfe Klemmen, schneidet dazwischen durch und reißt die in die Klemmen eingefaßten Muskelfasern nach kranial und kaudal möglichst weit bis zum Muskelansatz ab. Erst dann werden die Muskelstümpfe mit dem Messer abgetrennt. Auf diese Weise lassen sich die bei scharfer Präparation besonders starken Nachblutungen verringern.

Jetzt wird die Haut über dem verschlossenen Muskelspalt durch kräftige subkutane Katgutfäden (von A nach A) zusammengezogen, und danach die Subcutis

der Hautbrücke um den Nerven durch feine subkutane Katgutfäden zu einer Schlinge zusammengefügt. Man beginnt in der Mitte der Hautbrücke und setzt die Nähte möglichst weit vom Nerven entfernt so weit ein, daß die Hauträndер gut adaptiert werden. In den Ecken müssen die Zwickel in der Weise eingeschlagen werden, daß die Zwickelspitzen in die Mittellinie zu liegen kommen. Der Punkt B_1 wird unter der Hautbrücke an den Punkt B_2 herangebracht und durch feine (subkutane) Katgutfäden angenäht. Durch die Zwickel wird erreicht, daß alle Nähte in den „Ecken" nervenfern liegen und der Nerv weder durch Nahtdruck noch durch eine lokale Infektion beim Aufgehen einer Nahtstelle unmittelbar geschädigt werden kann.

Wenn alle Katgutnähte gelegt sind, kann die Schlinge durch feine Seidenknopfnähte (im Abstand von 1 cm) endgültig verschlossen werden. Für die Nähte zwischen A—A und C—C (d. i. der Hautbereich, aus dem der Zwickel stammt) sollen kräftige Seidenfäden verwendet werden. Bei einigen Hunden, die eine sehr straffe Haut besitzen, müssen die seitlichen Hautpartien in einem Bereich von 3—4 cm von ihrer Unterhaut gelöst werden, um zu vermeiden, daß die Hautnähte unter eine zu große Spannung geraten.

Bei der ganzen Operation ist auf eine sorgfältige Blutstillung zu achten, damit der Nerv nicht durch den Druck eines Hämatoms geschädigt wird.

Nach der Operation wäscht man die Schlinge mit steriler Kochsalzlösung, jodiert die Nähte und füllt den Raum unter der Schlinge *reichlich* mit 1%iger sterilisierter Silbernitratsalbe aus. Auf das gesamte Operationsgebiet kommt eine ebenfalls dick mit Silbernitratsalbe bestrichene Mullage, die locker mit sterilen Papierbinden (keine Mullbinden, welche die Schlinge strangulieren) befestigt wird. Die Salbe wirkt als Schmiermittel, in dem die Schlinge bei Bewegungen des Halses gleiten kann. Beim trockenen Wundverband pflegt die Schlinge mit der Umgebung zu verkleben, wodurch die Nähte bei Bewegungen des Halses leicht aufgerissen werden können. Nun folgt eine doppelte Wattelage, wieder Papierbinden und schließlich ein Gipsverband, der an den Ohren beginnt und den ganzen Thorax einschließt. Der Gipsverband muß auf der Rückseite durch 2 Aluminiumschienen verstärkt werden.

Der erste Verbandwechsel erfolgt am 5. Tage nach der Operation. Hierzu wird der Gipsverband auf beiden Seiten des Halses durchtrennt und die untere U-förmige Schale abgenommen. Dann wird die Watte mit der Mullage entfernt und das Wundgebiet mit einem sterilen, trockenen Tupfer vorsichtig gesäubert. Anschließend deckt man die Wunde durch eine sterile, mit Silbernitratsalbe dick bestrichene Mullage ab und wickelt die mit Watte frisch gepolsterte Gipsschale mit einer Gipsbinde wieder an. Am 8. Tage nach der Operation entfernt man den ganzen Verband und zieht die vorher jodierten Fäden. Nochmaliger Salbenverband, der nach Wattepolsterung mit 1—2 Gipsbinden am Halse fixiert werden muß, damit der Hund durch Kratzen den Verband nicht entfernen kann. Im Abstand von 2—3 Tagen müssen diese Verbände bis zur vollständigen Abheilung wiederholt werden, wobei jedesmal das ganze Wundgebiet mit Wundbenzin gereinigt wird. Wichtig ist, daß der Hund nach dem Abheilen etwa 4 Wochen lang eine breite Ledermanschette um den Hals trägt, um ein Kratzen an der Schlinge zu verhindern. Nach dieser Zeit sind die Haare an der Schlingenhaut wieder gewachsen und stellen einen natürlichen Schutz derselben dar, so daß sich die Ledermanschette nach dieser Zeit erübrigt. 4 Wochen nach der Operation kann das Tier bereits zu Versuchen benutzt werden.

(Die gleiche Schnittführung hat sich auch für die Operation der *Karotisschlinge* gut bewährt. Um eine 7—8 cm lange Schlinge zu erhalten, muß der Schnitt in der Mittellinie 10 cm und der parallele, seitliche Schnitt 8 cm lang sein. Der M. sternokleidomastoideus braucht für diese Operation nicht verschmälert zu werden. Sonst entspricht die Operation vollkommen derjenigen der Vagusschlinge.

Gegenüber der von WEZLER und THAUER[1] angegebenen Operationstechnik besteht der Vorteil der eigenen Schnittführung darin, daß 1. die schwierigen Nähte in den „Ecken" fortfallen, 2. keine Drucknekrose in den Ecken durch das Nahtmaterial mehr eintreten kann [sonst die häufigste Komplikation] und 3. die Schlinge nicht mehr durch das Narbengewebe in den Ecken schrumpfen und zu klein werden kann.)

Für die elektrische Reizung der Vagusschlinge benötigt man ein Gerät, mit dem man die Reizfrequenz von 0,1—100 Hz regeln kann. Bei den eigenen Versuchen wurde das von WAGNER und WETTERER angegebene Gerät benutzt, und zwar wurde

Abb. 2. Originalphoto eines Hundes mit 2 Vagusschlingen und 1 Karotisschlinge (in der Mitte). An der rechten Vagusschlinge ist eine Reizelektrode angelegt, deren Konstruktion aus der hängenden Elektrode (auf der linken Bildseite) ersichtlich ist.

mit den von dem Gerät gelieferten „sehr kurzen spitzen" Spannungsstößen gereizt. Als Elektroden dienten 2—3 mm dicke, mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtete Wollfäden, welche die Schlinge in einem Abstand von 2,5 cm umfassen. Die Wollfäden besitzen an ihrem Ende je ein dünnes Gummiband, das mit einer Öse an die Metallstifte der Stromzuführung angehängt wird (siehe Abb. 2). Die Spannung der Gummibänder darf nur gerade so groß sein, daß sich die Wollfäden gut anlegen. Ein zu starker Druck auf den Vagus macht sich bald durch eine Erhöhung der Herzfrequenz bemerkbar. Um eine gleichmäßige Durchfeuchtung der Wollfäden über 2—3 Std zu garantieren, empfiehlt es sich, jeden Metallstift der Elektroden mit einem wattegefüllten Metallröhrchen zu umgeben und jeweils einen kleinen Wattezipfel an einen Wollfaden anzubinden.

Durchführung einer Untersuchung.

Die Wirksamkeit eines hustenstillenden Präparates zeigt sich an einer charakteristischen Änderung der Reiz*frequenz*-Reizspannungskurve. Es ist daher notwendig, zunächst die Reizfrequenz-Reizspannungskurve des normalen Tieres zu ermitteln. Ihr typischer Verlauf ist aus der Abb. 3

ersichtlich. Die Werte der „normalen" Kurve sind jedoch beim gleichen Tier nicht immer konstant, sondern zeigen sowohl für die Reizfrequenz als auch für die Reizspannung von Tag zu Tag geringe Differenzen. Die unterschiedliche Reizspannung dürfte im wesentlichen von der immer etwas verschiedenen Lage der Elektroden abhängen, wodurch der elektrische Widerstand der Schlinge (zwischen 4000—5000 Ohm) wechselt. Die Frequenzschwelle, d. h. die langsamste, gerade noch wirksame Reizfrequenz ist bei jedem Hunde verschieden. Sie lag bei den eigenen Hunden zwischen 0,15 und 0,7 Hz. Beim gleichen Tier schwankt

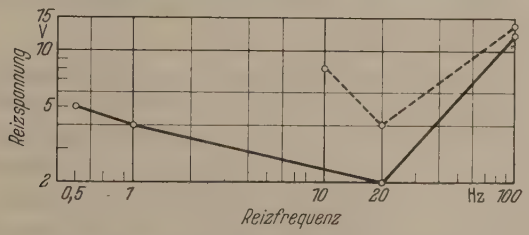


Abb. 3. Reizfrequenz-Reizspannungskurve. Ausgezogene Linie: normales Tier, gestrichelte Linie: 10 min nach der i. v. Injektion von 0,25 mg/kg l-Polamidon. *Hz* Reizfrequenz in Hertz, *V* Reizspannung in Volt.

sie von Tag zu Tag um 0,1—0,2 Hz. Diese Änderung ist von der „vegetativ-nervösen Ausgangslage" abhängig. Die Frequenzschwelle ist aber in jeder Ausgangslage scharf ausgeprägt und experimentell genau bestimmbar. Bei höheren Reizfrequenzen nimmt die benötigte Reizspannung etwas ab und durchläuft bei Frequenzen zwischen 20—30 Hz ein flaches Minimum. Bei Reizfrequenzen über 50 Hz muß man die Reizspannung auf das 2—3fache erhöhen (bei Verwendung kurzer, spitzer Spannungsstöße), um den gleichen Reizerfolg zu erhalten. Als Reizerfolg wurde in diesen Versuchen ein 3maliger Hustenstoß angesehen.

Nach der Zufuhr eines hustenstillenden Mittels (in dem abgebildeten Versuch wurde 0,25 mg/kg l-Polamidon i. v. gespritzt und die Untersuchung 10 min später angestellt) läßt sich im Bereich der Ausgangsschwellenfrequenz auch mit größten Reizspannungen kein Hustenreflex mehr auslösen. In dem dargestellten Versuch konnte man erst wieder bei einer Reizfrequenz von 10 Hz einen Reflex auslösen, wenn die Reizspannung gleichzeitig von 5 auf 8 Volt erhöht wurde. Bei der weiteren Steigerung der Reizfrequenz paßt sich die Kurve immer mehr der Normalkurve an, wie dies in analoger Weise bei Narkosekurven gezeigt werden konnte (Schroeder und Anschütz). In einen Frequenzbereich über 50 Hz können beide Kurven zusammenfallen. Oft jedoch liegt die Reizspannung der Hustenkurve bei Reizfrequenzen über 50 Hz etwa (1—2 Volt) höher. Für den Nachweis der Wirksamkeit eines Präparates genügt die Untersuchung weniger Punkte der Reizfrequenz-Reiz-

spannungskurve (vgl. Abb. 3). Nach der Feststellung der Schwellenfrequenz testet man noch eine schwellennahe Frequenz. Dann bestimmt man noch die Reizspannung im optimalen Frequenzbereich von 20 bis 30 Hz und schließlich bei 100 Hz.

Die Wirkung hustenstillender Mittel auf den Hustenreflex entspricht derjenigen der Narkotika (vgl. SCHROEDER und ANSCHÜTZ a. a. O.). Diese Substanzen beeinträchtigen die Summationsfähigkeit der Ganglienzellen des Hustenzentrums für die afferenten Hustenimpulse, so daß jetzt nur noch Reize höherer Frequenz zu einem Reizerfolg führen. Deshalb ist die *Erhöhung der Frequenzschwelle* ein zuverlässiges Zeichen für die Wirksamkeit hustenstillender Substanzen.

Die eigenen Versuche mit hustenstillenden Substanzen hatten einen lediglich orientierenden Charakter und die vorliegende Mitteilung kann aus diesem Grunde auch nur auf die Verwendungsmöglichkeit des Vagusschlingenhundes für die Untersuchung derartiger Substanzen hinweisen. Wir glauben aber mit ziemlicher Sicherheit sagen zu können, daß diese Methode in bezug auf ihre Empfindlichkeit allen anderen überlegen ist, weil man ein normales, waches Tier verwendet und den „Hustenreiz" exakt dosieren kann. Dieses Verfahren dürfte sich auch besonders zur Konstitutionsforschung zentralwirkender Hustenmittel eignen.

Bei der wiederholten Verwendung desselben Tieres vor allem für den Vergleich verschiedener Präparate ergeben sich die gleichen Schwierigkeiten, mit denen man bei allen derartigen Bestimmungen rechnen muß und die durch die veränderte Reaktion des Tieres auf die Zweitinjektion des gleichen oder eines ähnlich wirkenden Präparates bedingt sind (vgl. WEZLER[1, 2], WEZLER und THAUER[2]). Gerade bei den hustenstillenden Mitteln kann leicht und schnell eine Gewöhnung eintreten, die nur langsam wieder abklingt. Für ausgedehnte Untersuchungen muß man deshalb über eine Anzahl von Vagusschlingenhunden verfügen, die man dann aber viele Jahre hindurch verwenden kann. Auf der anderen Seite läßt sich mit dieser Methode der Grad der Gewöhnung in bequemer Weise quantitativ messend verfolgen.

Zusammenfassung.

Durch die operative Verlagerung des Halsvagus in einen Hautschlauch (Vagusschlinge) kann man beim Hunde die Versuchsbedingungen schaffen, unter denen eine elektrische Reizung der im Vagus verlaufenden afferenten Hustenfasern am *wachen* Tiere möglich ist.

Unter der Wirkung eines hustenstillenden Präparates erfährt die Reizfrequenz-Reizspannungskurve des normalen Tieres eine charakteristische Veränderung (Erhöhung der Reizfrequenzschwelle), die als Nachweis der Wirksamkeit der untersuchten Substanz benutzt werden

kann. Die zentral angreifenden Hustenmittel setzen die Summationsfähigkeit der Ganglienzellen des Hustenzentrums für afferente Impulse herab.

Die Operationstechnik der Vagusschlinge, die elektrischen Reizbedingungen und die Durchführung eines Versuches werden besprochen.

Literatur.

Eichler, O., u. A. Smiatek: Arch. internat. Pharmacodynamie **58**, 363 (1938). — Ernst, A. M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **194**, 621 (1940). — Kroepfli, P.: Helv. Physiol. Acta **8**, 33 (1950). — Schroeder, W., u. F. Anschütz: Z. exp. Med. (im Druck). — Wagner, R., u. E. Wetterer: Pflügers Arch. **251**, 585 (1949). — Wezler, K., u. R. [1]Thauer: Z. exper. Med. **108**, 377 (1940). — [2] Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **201**, 105 (1943). — [1]Wezler, K.: Organismen und Umwelt, 2. wiss. Woche, Frankfurt a. M. (Dresden: Steinkopff 1939). — [2] Pflügers Arch. **244**, 622 (1941).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 440—455 (1951).

Aus den Medizinischen Laboratorien der F. Hoffmann-La Roche & Co. A. G., Basel.

Über die Wirkung von „Persedon" und einigen anderen Schlafmitteln auf die Hämatopoese.

Von
RUDOLF JÜRGENS.

(Eingegangen am 21. September 1950.)

Außer ihren hypnotischen Eigenschaften haben die Schlafmittel noch mehr oder weniger ausgeprägte Nebenwirkungen. Diese können sich auch auf die Hämatopoese erstrecken. Dabei handelt es sich keineswegs um Wirkungen, die speziell den Schlafmitteln zukommen. Die Hämatopoese kann generell durch direkte toxische Einwirkung sehr verschiedenartiger Substanzen geschädigt werden. Entweder werden die Stammzellen selbst, aus denen die Blutzellen gebildet werden, durch die genannten Stoffe zerstört oder doch in ihrem Zellstoffwechsel beeinträchtigt, oder die gebildeten Blutzellen werden aufgelöst (Hämolyse, Leukolyse, Thrombozytolyse).

Eine Blutschädigung erfolgt aber auch auf indirektem Wege, nämlich durch Sensibilisierung des Organismus. Auch hier können alle *3 Blutzellsysteme* in Mitleidenschaft gezogen werden. Bekannt ist die akute Hämolyse mit folgender Hämoglobinurie, Ikterus und Fieber (Schwarzwasserfieber) bei Malaria durch Chinin und seine Derivate, die Thrombozytopenie nach Verabreichung von Goldpräparaten, Schnakengift und besonders von Allylisopropylazetylkarbamid u. a.

Schließlich ist die Agranulozytose zu nennen, welche in erster Linie durch Pyrazolonderivate, Barbiturate, Salvarsan, Dinitrobenzol, Sulfonamide u. a. ausgelöst werden kann. Im Tierexperiment läßt sich an der Ratte ein isolierter Schwund der Granulozyten bei normaler Zahl der Erytrozyten u. Thrombozyten, also „Agranulozytose", durch Succinylsulfathiazol hervorrufen (JÜRGENS u. STUDER,[1a]).

Doch werden bei weitem die meisten Agranulozytosen durch infektiös-toxisch bedingte anaphylaktische Krisen des leukopoetischen Gewebes verursacht, oft ohne daß im Einzelfalle der kausale Zusammenhang aufdeckbar ist, während die medikamentöse Agranulozytose relativ selten ist.

Blutschädigende Wirkungen werden also durch sehr verschiedenartige Substanzen hervorgerufen.

Besondere Beachtung verdienen solche Medikamente, die vom breiten Publikum regelmäßig genommen werden, z. B. die Antipyretika und die Hypnotika. Wir haben deshalb schon vor geraumer Zeit ausgedehnte tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung einiger Schlafmittel

auf die Hämatopoese ausgeführt und namentlich dem Persedon unsere Aufmerksamkeit gewidmet. In U.S.A. kamen vereinzelte Fälle von Agranulozytose vor, die uns zu neuen Untersuchungen veranlaßt haben.

Methodik.

Unsere experimentellen Arbeiten wurden an Kaninchen und Ratten durchgeführt, welche die zur Prüfung gelangten Präparate per os entweder einmalig in verschiedener Dosierung (akute Wirkung), wiederholt (chronische Wirkung) oder nach mehrmaliger Vorbehandlung mit Einschaltung von Behandlungspausen und erneuter Applikation (sensibilisierende Wirkung) erhielten. Die Blutentnahme für die hämatologischen Untersuchungen wurden in der Regel vor, während und am Ende der Medikation vorgenommen (Blutstatus, Thrombozytenzählung, Kammermethode nach JÜRGENS[1], Knochenmarksausstriche). Teilweise wurde die Senkungsgeschwindigkeit nach WESTERGREEN gemessen. Die Organe der verendeten oder getöteten Tiere wurden histologisch untersucht.

Experimentelle Untersuchungen.

Geprüft wurde in erster Linie das 3,3-Diäthyl-2,4-dioxotetrahydropyridin (Persedon), ferner Phenyläthylbarbitursäure, allylisopropylbarbitursaures Diäthylamin, Zyklohexenyläthylbarbitursäure, Diphenylhydantoin, Diallylazetureid und Allylisopropylazetylkarbamid.

I. Versuche mit 3,3-Diäthyl-2,4-dioxotetrahydropyridin (Persedon.)

Das 3,3-Diäthyl-2,4-dioxotetrahydropyridin ist in Wasser zu $25^0/_{00}$ in Olivenöl zu $50^0/_{00}$ löslich. Es hat eine schlafbewirkende Dosis für die Ratte von 0,5 g/kg, für das Kaninchen von 0,25 g/kg. Die absolut letale Dosis ist für die Ratte 0,8 g/kg, für das Kaninchen 0,5 g/kg.

Versuche an der Ratte (73 Tiere).

Erhalten *Ratten* 1 mal per os steigende Dosen dieses Präparates (bis zu tödlichen — 0,5, 0,75, 1,0, 1,25 und 1,5 g/kg), so bleibt das rote Blutbild, abgesehen von geringem Absinken des Hämoglobins und der Erythrozyten nach toxischen Dosen (1,25 und 1,5 g/kg), unverändert. Das weiße Blutbild ändert sich nach Gaben von 0,5 und 0,75 g/kg per os nicht, nach 1,0, 1,25 und 1,5 g/kg kommt es zu mäßiger Leukopenie mit Neutrophilie. Die Thrombozyten bleiben unverändert, zu Blutungszuständen kommt es nicht.

Organveränderungen: geringe Verfettung, Kernpyknose, Hyperämie, Blutfarbstoffspeicherung der Leber, Schwund der Lymphfollikel, Leukozytenvermehrung in der Milz. Hyperämie, Gefäßerweiterung und geringe Tubulusdegeneration der Nieren. Die hämatologischen und histologischen Veränderungen sind auf direkte toxische Einwirkungen der verabfolgten hohen Dosen von Persedon zurückzuführen.

Erhalten Ratten wiederholt kleinere Dosen (6 mal 0,25 g/kg per os) täglich mit nachfolgender Behandlungspause von 3 Wochen und nochmaliger Verabreichung einer kleinen Persedondosis von 0,25 g/kg, so

bleibt das rote Blutbild bei allen Tieren im Verlauf des ganzen Versuchs normal. Das weiße Blutbild zeigt ebenfalls nur geringe zahlenmäßige Verringerung der Leukozyten mit Neutrophilie und Linksverschiebung. Die Thrombozyten bleiben auf normalen Werten stehen, und es kommt nicht zu Blutungszuständen.

Organveränderungen: mehr oder weniger ausgesprochenes Lungenödem, Hämosiderose und Hyperämie der Leber, Hyperplasie des lymphatischen Gewebes in der Milz, geringe Hämorrhagien in den Nieren. Die beobachteten Veränderungen sind wiederum im wesentlichen durch direkte Einwirkung des Präparates hervorgerufen. Allergische Reaktionen treten nicht auf.

Erhalten Ratten 1 mal größere Dosen (1,0, 0,75 und 0,5 g/kg per os) und nach einer Pause von 5 Wochen nochmals 1 mal die gleichen hohen Dosen, so ändert sich das rote Blutbild nicht wesentlich. *Weißes Blutbild:* nach den hohen Gaben kommt es zu mäßigem Absinken der Leukozytenzahlen, die in der Behandlungspause in *Leukozytose* umschlagen. Die Thrombozyten sind normal, keine Hämorrhagien. Organveränderungen: mäßige Hyperplasie des lymphatischen Gewebes und Vermehrung der Eosinophilen.

Erhalten Ratten 1 mal größere Dosen (1,0, 0,75 und 0,5 g/kg per os) und nach 5wöchiger Behandlungspause nochmals die gleiche Dosis und darauf nach einer Pause von 28 Tagen 2 mal kleine Dosen (0,25 g/kg per os), so bleibt auch bei dieser Versuchsanordnung das rote Blutbild normal, nur ausnahmsweise kommt es zu mäßigem Absinken der Erythrozyten und des Hämoglobins. Nach den Behandlungspausen entwickelt sich gelegentlich Leukozytose mit Vermehrung der Lymphozyten und Eosinophilie. Die Thrombozyten bleiben unverändert hoch, keine Blutungszustände. Dabei finden sich Hyperplasie des lymphatischen Gewebes, Hämosiderose der Leber, geringe Degeneration der Nierentubuli und einzelne herdförmige Blutungen (direkte Schädigung) (Tab. 1).

Versuche an Kaninchen (12 Tiere).

Unter wiederholten kleineren steigenden Dosen (0,25, 0,3 und 0,4 g/kg Kaninchen) täglich während 12 Tagen bleibt das rote und weiße Blutbild ohne wesentliche Veränderung, dabei geringe Neutrophilie mit Lymphozytopenie. Thrombozytenzahlen bei allen Tieren mit einer Ausnahme nicht vermindert. Keine Blutungszustände. Mäßiges Lungenödem, geringe herdförmige Degeneration der Leberzellen mit Hyperämie und trübe Schwellung der Nieren.

Wird Persedon in kleineren Dosen (0,25, 0,3 und 0,5 g/kg Kaninchen — 12 Tiere) wiederholt und nach einer Behandlungspause von 3 bzw. 4 Wochen an aufeinanderfolgenden Tagen 1-, 2- oder 3 mal zu je 0,25 g/kg per os gegeben, so treten im allgemeinen keine Blutungszustände auf.

Nur gelegentlich kommt es zu Ödem mit einzelnen Blutungen in den Mesenteriallymphdrüsen. Normale Leukozytenzahlen, Leukopenie, die ausweislich der geringen Streuung (siehe Tab. 2) nur unwesentlich ist. Eosinophilie nach der Behandlungspause, normale Thrombozytenwerte. Blutsenkungsreaktion nach WESTERGREEN

Tabelle 1. *Einmalige und wiederholte Verabreichung von Persedon in kleinen und hohen Dosen mit und ohne Behandlungspause und nachfolgender Erfolgsdosis. — Durchschnittswerte von 73 Ratten.*

Persedon per os	Erythr. Mill.	Hb. %	Färbeindex	Leukozyten	Eosin. L.	Segm. K. L.	Stabk. L.	Lympho-zyten	Monozyten	Thrombozyten im mm³
vor Behandlung	8,2	103	0,6	18 200	3,0	8	1	82	6	920 000
nach 1 mal 1 g/kg	7,4	102	0,7	10 200	1,0	24	12	61	2	560 000
vor Behandlung	7,4	104	0,6	18 400	3,0	8	1	82	6	680 000
nach 1 mal 1,5 g/kg	6,2	91	0,7	8 700	—	24	8	67	1	550 000
vor Behandlung	7,0	104	0,8	17 600	2,2	7	0,5	85	6	746 000
nach chron. Gabe von 0,25 g/kg Mittel aus 8 Versuchen	7,2	104	0,8	13 500	1,5	19	2,8	72	5	840 000
vor Behandlung	7,2	99	0,7	48 400	3,0	19,3	4	70,2	3,2	534 000
2 1 malige Dosen von 0,5 g/kg mit Pause Mittel aus 6 Versuchen	7,1	99	0,7	30 000	1,6	12,1	2,2	79,2	5,5	601 000
vor Behandlung	6,2	104	0,8	17 000	9,0	21	0,5	67	2,5	577 000
2 1 malige Dosen von 1 g/kg	8,8	108	0,6	6 300	0,5	10	2	84	3,5	548 000
vor Behandlung	5,0	76	0,8	12 000	—	18,4	4,6	71	4,0	555 000
danach steigende Dosen von 0,25—0,5 g/kg nach 12 Tagen — Mittel aus 4 Versuchen	4,6	80	0,9	10 500	1,0	50,0	7,5	35	7,5	457 000

während der ganzen Versuchsdauer normal. Häufig bronchopneumonische Infiltrationen der Lungen, Hyperämie und Hämosiderose der Leber, lymphatische Metaplasie der Milz mit Zunahme der lymphoiden Retikulumzellen und der eosinophilen Leukozyten. Hyperämie, trübe Schwellung und kleinere herdförmige parenchymatöse Blutungen in den Nieren (Tab. 2).

Tabelle 2. *Wiederholte Verabreichung kleiner Dosen Persedon (0,25 g/kg) per os mit einer Behandlungspause von 3 bzw. 4 Wochen und 1maliger bzw. 2- und 3maliger Nachbehandlung mit kleinen Dosen an 12 Kaninchen. Mittel aus 12 Versuchen.*

Persedon per os g/kg	Erythr. Mill.	Hb. %	Leuko-zyten	σ Streuung*	Segmk. L.	Stabk. L.	Lympho-zyten	Thrombo-zyten
vor der Behandlung	5,1	77	19 000	± 12 100	31,5	9,2	52,5	590 000
nach 6 mal 0,25 g/kg	4,7	72	12 000	± 4 700	36,0	6,1	40,0	539 000
nach 3 Wochen Pause	4,7	79	9 800	± 2 700	35,0	3,8	55,0	525 000
nach 1—3 mal 0,25 g/kg	4,7	73	7 800	± 2 710	38,0	2,7	51,0	569 000

*) $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$

Außer dem leichten Absinken der Leukozyten nach hohen Dosen treten keine Blutschäden auf. Abfall der Leukozyten wird fast regelmäßig nach Verabfolgung wirksamer Substanzen beobachtet. Irgend ein Anhaltspunkt für Agranulozytose ist nicht gegeben. Ebensowenig fanden sich unter den verschiedenen Versuchsbedingungen Anämie und Hämorrhagische Diathese.

Weitere Versuche an Kaninchen.

In Untersuchungen mit A. STUDER wurde mit 10 verschiedenen Formen von Persedon bzw. Presidon* an Kaninchen auf eventuelle Agranulozytosewirkung gefahndet. Die akute Vergiftung mit Persedon in der tödlichen Dosierung von 1,0 g/kg ergab ein Absinken der Leukozyten um etwa die Hälfte, wobei es zu einer Verschiebung zugunsten der Lymphozyten kam (Tab. 3).

Tabelle 3. *Wirkung einmaliger hoher Dosen von Persedon. Durchschnittswerte aus 4 Versuchen (Kaninchen).*

	Leukozyten-zahl	Neutrophile: segmentk. im mm³	Neutrophile: stabk. im mm³	Lymphozyten im mm³
Vor der Behandlung . . .	6062	14	0,7	85
45 min nach 1 g/kg . . .	3733	9	1	92
120 min nach 1 g/kg . . .	3075	7,5	0,5	92

* Amerikanische Bezeichnung für „Persedon".

In einem Sensibilisierungsversuch, in den die Tiere per os 0,3 g/kg und nach 4wöchiger Behandlungspause als „Erfolgsdosis“ erneut 0,3 g/kg Persedon erhielten, fand sich lediglich ein leichter Abfall der Leukozyten

Tabelle 4. *Äthylphenylbarbitursäure.*
6 × 0,1 g/kg Kaninchen.

	Leukozyten vor Auslösung	Auslösung mit 0,1 g/kg nach		
		1 Std	8 Std	24 Std
Leukozytenzahl .	10 000	6050	9100	12 050
segmentk. . . .	23	13		21
Neutrophile: stabk.				2
Lymphozyten . .	77	87		75
Monozyten . . .				2
Leukozytenzahl .	5200	3550	7050	5800
segmentk.	6	19		11
Neutrophile: stabk.		1		
Lymphozyten . .	93	78		89
Monozyten . . .	1	2		

mit einer Verschiebung zugunsten der Neutrophilen. Diese Veränderungen traten während des durch Persedon bewirkten Schlafes auf und waren nach 24 Std fast wieder ausgeglichen. Vergleichsweise zu diesen Versuchen wurden im Verlauf von 6 Tagen 6mal 0,1 g/kg Äthylphenylbarbitursäure verabreicht. Die Auslösung erfolgte nach 4wöchiger

Tabelle 5. *Äthylphenylbarbitursäure, Auslösung mit Persedon.*
6 × 0,1 g/kg Kaninchen

	Leukozyten vor Auslösung	1. Auslösung mit 0,3 g/kg Persedon nach			2. Auslösung nach 6 Tagen mit 0,3 g/kg Persedon nach		
		1 Std	8 Std	24 Std	1 Std	8 Std	24 Std
Leukozytenzahl .	6400	4150	7150	7050	5550	5950	6550
Neutrophile: segmentk.	28	2		29	14		
stabk.					5		
Lymphozyten . .	71	97		69	80		
Monozyten . . .	1	1		2	1		
Leukozytenzahl	4950	5150	7550	4900			
Neutrophile: segmentk. . . .	6			34			
stabk.							
Lymphozyten . .	94			65			
Monozyten . . .				1			

Behandlungspause mit 0,1 g/kg Äthylphenylbarbitursäure, wobei es ebenfalls zu einem deutlichen Absinken der Leukozyten kam. Nach 24 Std waren die Werte wieder normal (Tab. 4).

Ferner wurden Kaninchen mit 0,1 g Äthylphenylbarbitursäure vorbehandelt und nach 4wöchiger Behandlungspause 0,3 g/kg Persedon verabreicht. Der leichte Abfall der Leukozyten war nach 24 Std ebenfalls wieder völlig ausgeglichen (Tab. 5).

II. Versuche mit Äthylphenylbarbitursäure.

Äthylphenylbarbitursäure hat eine schlafbewirkende Dosis für die Ratte und das Kaninchen von 0,15 g/kg. Die absolut letale Dosis ist für die Ratte 0,25 g/kg, für das Kaninchen 0,175 g/kg.

Erhalten *Ratten* längere Zeit täglich schlafbewirkende Dosen (0,1 g/kg per os) mit Einschaltung einer Behandlungspause und erneuter Verabreichung, so kommt es bei allen Tieren nach der letzten Gabe zu einem mehr oder weniger starken Absinken der Thrombozyten, gelegentlich sogar unter 100 000 im Kubikmillimeter. Bei allen Tieren finden sich Blutungen in den Lungen, Nieren und der Leber (Tab. 6).

Tabelle 6. *Wiederholte perorale Verabreichung von Äthylphenylbarbitursäure und Allylisopropylbarbitursäure mit einer Behandlungspause und nachfolgender Erfolgsdosis an Ratten. Durchschnittswerte von je 4 Ratten.*

	Erythr. Mill.	Hb. %	Leukozyten	Lymphozyten	Thrombozyten im mm³
Äthylphenylbarbitursäure vor der Behandlung	6,80	107	16 800	78	690 000
nach 42 Tagen Behandlung mit 0,1 g/kg	6,80	107	16 600	83	500 000
nach 19 Tagen Pause und weiteren Dosen von 0,1 g/kg	6,06	102	24 500	80	144 000
Allylisopropylbarbitursäure vor der Behandlung	6,4	111	15 500	67	719 000
nach 20 Tagen Behandlung mit 0,06 g/kg, 12 Tagen Pause und dann 2mal 0,06 g/kg	6,06	106	19 100	71	602 000

Erhalten *Kaninchen* wiederholt eine schlafbewirkende Dosis (7mal 0,1 g/kg per os) mit Einschaltung einer Behandlungspause, so fallen die Thrombozyten zuerst langsam, nach den letzten Gaben (nach der Pause) aber rapid ab, bis auf Werte unter 100 000 im Kubikmillimeter. Größere Organblutungen stellen sich nicht ein, wohl aber herdförmige Blutungen in Leber und Niere, mit Blutaustritt in den Urin (Tab. 7).

Sowohl in den Ratten- wie in den Kaninchenversuchen konnten keine wesentlichen Veränderungen des weißen und roten Blutbildes festgestellt werden. Lediglich nahmen die Leukozytenzahlen etwas zu und im Differentialblutbild trat Neutrophilie mit geringer Linksverschiebung und Lymphopenie ein. Lungenödem, in den Nieren herdförmige Blutungen in Rinde und Mark, im Urin reichlich Erythrozyten, Benzidinprobe auf Blut stark positiv. Leber: Hämosiderose sowie starke Speicherung von Blutfarbstoff in den KUPFFERschen Sternzellen, teilweise Kernpyknose in den Leberzellen.

Es gelingt also im Sensibilisierungsversuch sowohl beim Kaninchen als an der Ratte hämorrhagische Diathese hervorzurufen. Anhaltspunkte für Agranulozytose oder Anämien ergaben sich nicht.

III. Versuche mit Allylisopropylbarbitursäure.

Die Allylisopropylbarbitursäure hat eine schlafbewirkende Dosis für die Ratte von 0,02 g/kg, für das Kaninchen von 0,03 g/kg. Die absolut letale Dosis ist für die Ratte 0,12 g/kg, für das Kaninchen 0,16 g/kg.

Erhalten *Ratten* längere Zeit alle 2 Tage 0,06 g/kg per os mit Einschaltung einer 12tägigen Behandlungspause, so kommt es auch nach 2maliger nachträglicher Gabe von Allylisopropylbarbitursäure weder zu einem Absinken der Thrombozyten noch zu Organblutungen. Lediglich geringe Nierenschädigungen finden sich (Tab. 6).

Erhalten *Kaninchen* bei der gleichen Versuchsanordnung 0,06 g/kg, so sinken die Thrombozyten nach der letzten Verabreichung etwas ab. Ausgesprochene Thrombopenie oder Blutungen entwickeln sich aber nicht. An den Nieren finden sich geringe nephrotische Veränderungen (Tab. 7).

Weißes und rotes Blutbild blieben — abgesehen von geringer Neutrophilie — im wesentlichen unverändert. Hyperämie, Ablagerung von Blutfarbstoff, Pyknose der Leberzellkerne und der Kerne der KUPFFERschen Sternzellen. Nieren: an einzelnen Glomeruli geringe Verdickung und Zellwucherungen der BOWMANschen Kapsel. Epithelien der Tubuli contorti gequollen, Granula-arm und von verwaschener Struktur.

IV. Versuche mit Zyklohexenyl-äthyl-barbitursäure.

Die Zyklohexenyl-äthyl-barbitursäure hat eine schlafbewirkende Dosis für die Ratte von 0,35 g/kg, für das Kaninchen von 0,27 g/kg. Die absolut letale Dosis ist für die Ratte 0,5 g/kg, für das Kaninchen 0,45 g/kg.

Erhalten *Kaninchen* wiederholt (6mal) 0,15 g/kg per os und nach einer 12tägigen Behandlungspause wiederum 0,15 g/kg, so kommt es nicht zu Blutungszuständen. Außer leichter Verfettung der Leber, sowie geringen degenerativen Veränderungen an den Nierentubuli finden sich keine pathologischen Organveränderungen (Tab. 7).

Tabelle 7. *Versuche an 19 Kaninchen mit wiederholten Dosen per os, Behandlungspausen und Verabreichung von Erfolgsdosen.*

	Erythr. Mill.	Hb. %	Leukozyten	Segm. k. L.	Stabk. L.	Lymphozyten	Thrombozyten im mm³
Äthylphenylbarbitursäure							
vor der Behandlung mit 0,1 g/kg täglich 12 Tage lang	5,53	84	10 000	22	4	65	550 000
nach Pause erneut 2 mal 0,1 g/kg am Ende der Behandlung. Mittel aus 2 Versuchen	5,96	96	16 600	40	10	40	114 000
Allylisopropylbarbitursäure							
vor der Behandlung mit 0,06 g/kg täglich 12 Tage lang	5,54	78	6 800	19	6	68	510 000
nach Pause erneut 2 mal 0,06 g/kg am Ende der Behandlung. Mittel aus 2 Versuchen	5,09	97	8 400	20	7	62	346 000
Cyclohexyl-äthyl-barbitursäure							
vor der Behandlung mit 0,15 g/kg täglich 6 Tage lang	5,48	80	9 000	19	6	70	662 000
nach Pause von 12 Tagen erneut 1 mal 0,15 g/kg am Ende der Behandlung. Mittel aus 3 Versuchen	5,30	78	9 300	27	7	61	486 000
Diphenylhydantoin							
vor der Behandlung mit 0,2 g/kg täglich 6 Tage lang	5,30	85	8 400	28	5	59	595 000
nach Pause von 12 Tagen erneut 1 mal 0,2 g/kg am Ende der Behandlung. Mittel aus 3 Versuchen	4,30	72	3 300	45	7	38	110 000
Diallylazetureid							
vor der Behandlung	5,40	75	9 600	28	6	59	516 000
am Ende der Behandlung mit 3 mal 0,15 g/kg alle 2 Tage	4,90	93	6 800	23	2	68	521 000

Tabelle 7 (Fortsetzung).

	Erythr. Mill.	Hb. %	Leuko-zyten	Segm. k. L.	Stabk. L.	Lympho-zyten	Thrombo-zyten im mm³
Allylisopropylazetureid							
vor der Behandlung	4,90	83	11 100	36	1	60	533 000
nach 24 Std, am Ende der Behandlung mit 1 mal 1,5 g/kg, letale Dosis. Mittel aus 2 Versuchen	4,30	74	4 300	30	2	65	440 000
Allylisopropylazetureid							
vor der Behandlung	4,90	80	8 300	26	11,8	59,5	449 000
am Ende der Behandlung mit steigenden Dosen (0,25—1,0 g/kg) 7 Tage lang. Mittel aus 3 Versuchen	5,00	82	5 700	44,2	10	39,2	499 000
Allylisopropylazetureid							
vor der Behandlung	6,08	81	6 600	33	—	60	713 000
nach 5 Behandlungen mit 0,3 g/kg jeden 2. Tag	5,38	75	3 800	21	1	70	643 000
nach Pause von 14 Tagen	4,98	61	9 600	27	4	63	50 000
nach erneut 2 Dosen von 0,3 g/kg	8,10	59	15 600	21	7	64	64 000
nach weiterer Pause von 14 Tagen	5,22	70	8 200	32	12	51	79 000
Allylisopropylazetureid							
vor der Behandlung	5,35	83	7 200	28	4	60	691 200
nach 5 Behandlungen mit 0,3 g/kg jeden 2. Tag	5,26	78	8 800	35	3	58	697 900
nach Pause von 14 Tagen	5,74	84	9 400	28	3	62	600 000
nach erneut 2 Dosen von 0,3 g/kg	5,33	80	9 200	24	5	70	459 000
nach weiterer Pause von 14 Tagen	4,89	77	12 500	33	5	60	26 5000
nach weiterhin 1 mal 0,8 g/kg. Mittel aus 2 Versuchen	4,30	80	10 800	37	4	51	58 200

Im roten und weißen Blutbild keine wesentlichen Veränderungen, außer geringer Neutrophilie. Thrombozyten normal. Lungen und Herz außer kleinen Rundzelleninfiltrationen in der Herzmuskulatur keine pathologischen Befunde. Leber: geringe Hämosiderose sowie Speicherung der KUPFFERschen Sternzellen, geringe Verfettung der Leberzellen, stellenweise Kernpyknose. Milz: reichlich Lymphfollikel, scharf begrenzt, mit zahlreichen Lymphozyten. Nieren: Hyperämie von Rinde und Mark, Blutfarbstoffablagerung, geringe trübe Schwellung. Nebennieren: geringe Hyperämie.

V. Versuche mit Diphenylhydantoin.

Die DL 50 für die Maus ist 0,65 g/kg.

Erhalten *Kaninchen* 6mal 0,2 g/kg Diphenylhydantoin per os und nach einer 12tägigen Behandlungspause nochmals 0,2 g/kg, so entwickelt sich bei einzelnen Tieren hämorrhagische Diathese mit Thrombopenie. Die Blutungen erstrecken sich auf Leber, Nieren, Milz und Nebennieren. Außerdem kommt es zu geringem Absinken des Hämoglobins und der Erythrozyten, zu Leukopenie und Eosinophilie. An der Leber finden sich mäßige Verfettung, herdförmige Blutungen, reichlich Blutfarbstoffablagerungen mit Speicherung in den KUPFFERschen Sternzellen sowie Degeneration der Leberzellen. In der Milz lassen sich Blutungen feststellen, an der Niere hämorrhagische Nephritis mit nephrotischem Einschlag, an den Nebennieren Hämorrhagien (Tab. 7).

VI. Versuche mit Diallylazetureid.

Diallylazetureid hat keine schlafbewirkende Dosis, in höheren Dosen eine toxische Wirkung. Die absolut letale Dosis für das Kaninchen ist 0,3 g/kg.

Nach wiederholten Dosen von 0,15—0,3 g/kg per os gehen *Kaninchen* in wenigen Tagen zugrunde. Keine hypnotische Wirkung. Hämorrhagische Diathese tritt nicht ein. Die Zahl der Thrombozyten im Blut und die Megakariozyten des Knochenmarks verändert sich weder zahlenmäßig noch morphologisch. Schweres Lungenödem, hochgradige Atrophie der Leber mit schwerster Verfettung, hämorrhagische Nephritis mit nephrotischem Einschlag (Tab. 7).

Gibt man wiederholt die eben erträgliche Dosis (0,075 g/kg per os) mit Einschaltung einer Behandlungspause von 4 bzw. 8 Wochen, so kommt es weder zu symptomatischen Blutungszuständen, noch zu Thrombopenie. Auch bei dieser Dosierungsweise entwickelt sich schweres Lungenödem, Atrophie der Leber mit schwerer Verfettung, sowie Nephritis mit nephrotischem Einschlag. Hämoglobin und Erythrozytenherde, Leukozytenzahl und Differentialblutbild verändern sich nicht wesentlich.

VII. Versuche mit Allylisopropylazetureid.

Allylisopropylazetureid hat eine schlafbewirkende Dosis für die Ratte von 0,4 g/kg, für das Kaninchen von 0,3 g/kg. Die absolut letale Dosis ist für die Ratte 0,6 g/kg, für das Kaninchen 1,5 g/kg.

Erhalten *Ratten* täglich für längere Zeit (30 Tage und darüber) 0,15 (bzw. 0,25) g/kg per os, so kommt es weder zu Thrombopenie noch zu Hämorrhagien.

Behandelt man die Tiere täglich für längere Zeit (61 Tage und darüber) mit 0,1—0,3 g/kg per os mit Einschaltung einer Behandlungspause, so ändern sich die Thrombozytenzahlen nicht wesentlich. Es entwickeln sich dagegen kleinere Blutungen in Leber und Niere.

Bei *Kaninchen* sinken mit der absolut letalen Dosis (1,5 g/kg per os) die Thrombozytenzahlen vor dem Tode etwas ab; Thrombopenie oder Blutungen stellen sich aber nicht ein (Tab. 7).

Wiederholte steigende Dosen von 0,25—1,0 g/kg führen weder zu Thrombopenie noch zu wesentlichen Blutungen in die Organe; nach wiederholten Dosen (0,5 g/kg) in kleinen Abständen treten bei einzelnen Tieren größere Organblutungen mit Thrombopenie auf (Tab. 7).

Nach wiederholter Verabreichung von 0,3 g/kg mit Einschaltung einer Behandlungspause von 14 Tagen oder mit Einschaltung von 2 Behandlungspausen und anschließender 1maliger Gabe von 0,8 g/kg am Ende des Versuchs, fallen die Thrombozyten erheblich ab. In den Organen (Lungen, Leber, Nieren) finden sich reichlich Blutungen. Rotes und weißes Blutbild ändern sich während der Behandlung nicht wesentlich (Tab. 7).

Besprechung der Befunde.

Eine *Schädigung der Erythropoese* erheblichen Grades, so daß man von Anämie sprechen könnte, hat sich weder nach akuter noch chronischer Verabreichung, noch im Sensibilisierungsversuch mit den untersuchten Schlafmitteln nachweisen lassen.

Alterationen der *Thrombopoese* mit Thrombopenie und hämorrhagischer Diathese ließen sich im Sensibilisierungsversuch bei Verabreichung von Äthylphenylbarbitursäure, Diphenylhydantoin und Allylisopropylazetureid experimentell hervorrufen, dagegen nicht mit Persedon, Allylisopropylbarbitursäure und Diallylazetureid. Die Blutungen, welche mit den aufgeführten Medikamenten zustande kamen, beruhen auf einer anaphylaktischen Reaktion und nicht auf einer progressiven Schädigung der Thrombozyten, denn nach wiederholter Verabreichung auch hoher Dosen, ohne Einschaltung von Behandlungspausen, entstehen die Blutungen nicht. Die Schädigungen, welche die Blutungen bedingen, sind Alterationen der Kapillarwände und der Megakariozyten sowie Thrombozytolyse im peripheren Blut, zum Teil auch Gerinnungsstörungen, die durch die verzögerte Umwandlung des Prothrombins in Thrompin zustande kommen und auf unvollständiger Aktivierung von Thrombokinase wegen Mangels an Thrombozyten beruhen (verzögerte Retraktion des Koagulums, verzögerter Prothrombinverbrauch während der Gerinnung).

Veränderungen in der *Leukopoese* ließen sich erst nach Verabreichung von übermäßig hohen Dosen von Persedon nachweisen. Der akute Versuch mit der Vergiftungsdosis von 1,0 g/kg führte durchwegs zu einem deutlichen Abfall der Leukozyten und zu einer relativen Vermehrung der Lymphozyten. Diese Befunde haben aber insofern keinen Zusammenhang mit einer Agranulozytose, als es sich um eine akute Vergiftung durch extrem große Dosen und nicht um eine Sensibilisierung handelt.

Bei keinem der zahlreichen Tiere hat chronische Verabreichung der Präparate zu einer Agranulozytose geführt. Die Diagnose Agranulozytose war deshalb in keinem Fall zu stellen, weil es nie zu einem Sturz der Leukozyten kam und weil nie eine schwere Neutropenie auftrat. Zwar wurde bei der Auslösung, d. h. bei der einmaligen Verabreichung von 0,3 g/kg Persedon nach Vorbehandlung und 4wöchiger Behandlungspause, fast regelmäßig eine leichte Senkung der Leukozytenzahl festgestellt. Diese war aber nach 8, spätestens nach 24 Std wieder völlig ausgeglichen. Sie ist, wie wir betonen müssen, in keiner Weise für Persedon spezifisch, denn in früheren Untersuchungen konnten wir regelmäßig zu Beginn einer Urethan- oder Numalnarkose nach 1 Std eine leichte Leukopenie feststellen. Auch der Versuch mit Äthylphenylbarbitursäure ergab dasselbe Verhalten der Leukozyten. Offenbar hängt dieser Abfall mit einer Verschiebung der Leukozyten auf Grund des veränderten Kreislaufes im Schlaf zusammen.

Beachtenswert ist die beobachtete Verschiebung des qualitativen Blutbildes zugunsten der neutrophilen Leukozyten. Wir haben also einen der Agranulozytose entgegengesetzten Vorgang. Aber nach Abschluß des Versuches, d. h. 24 Std nach der ersten oder zweiten Auslösung war sie bereits weitgehend wieder ausgeglichen.

Die Versuchsvariation einer Vorbehandlung der Tiere mit Äthylphenylbarbitursäure und Auslösung mit Persedon ergab nicht wesentlich andere Verhältnisse, höchstens, daß der hier beobachtete Abfall der neutrophilen Leukozyten 1 Std nach der ersten Auslösung zu erwähnen ist.

Somit lassen sich im Tierexperiment beweisbare Anhaltspunkte für Agranulozytosewirkung von Persedon nicht nachweisen. Das schließt nicht aus, daß bei Verwendung von riesigen Tierzahlen gelegentlich Agranulozytose beobachtet werden könnte. Das Tierexperiment vermag hier schon aus technischen Gründen den Zahlenverhältnissen im „Menschenversuch" selbstverständlich nicht völlig gerecht zu werden. Immerhin kann aus diesen Versuchen geschlossen werden, daß es sich bei Persedon nicht um ein Präparat handelt, das bei entsprechender Versuchsanordnung eine speziell blutschädigende Wirkung erkennen läßt.

Im Gegensatz zu den ausgedehnten tierexperimentellen Untersuchungen, die keinen Anhaltspunkt für Agranulozytose ergeben haben, stehen Berichte aus USA, nach denen Persedon Agranulozytose verursacht hat.

EHRLICH, M. E., und L. N. SUSSMAN,[2] haben bei einer 49jährigen Frau, die täglich 300 mg Persedon während 2 Monaten genommen hatte, eine sichere

Agranulozytose beobachtet, die durch hohe Dosen von Penicillin innerhalb von 3 Wochen geheilt werden konnte. In diesem Fall führte erneute Einnahme von Persedon innerhalb weniger Stunden zu einem Absinken der Leukozyten.

Über einen andern Fall berichtet Tyson[3]. Ein 50jähriger Mann hatte täglich 400—600 mg Persedon genommen. Nach 3 Monaten kam es zu einer Agranulozytose mit 3000 Leukozyten, davon 97% Lymphozyten. Auch dieser Patient konnte unter Penicillinschutz, und zwar schon nach 9 Tagen geheilt werden. Allerdings hatte dieser Kranke außerdem noch Luminal genommen. Da dieses aber die rasche Normalisierung des weißen Blutbildes nicht verhinderte, kommt der Autor zur Annahme, daß die Agranulozytose durch Persedon ausgelöst worden war. Bisher war in der Literatur nichts darüber bekannt, daß Persedon als agranulozytoseauslösendes Medikament in Betracht käme, wie dies nach Gebrauch von Aminopyrin, Dinitrophenol, Sulfonamiden, Thiouracil und gewissen Antihistaminika immer wieder beobachtet worden ist.

Schließlich haben Covner u. Mitarb.[4] über einen dritten Fall von Agranulozytose nach Persedon berichtet. Eine 64jährige Frau war wegen chronischer Diverticulitis etwa 10 Jahre einem Arzneimittelmißbrauch verfallen. Nach Einnahme von 1,8 g Persedon innerhalb von 5 Tagen entwickelte sich eine Agranulozytose mit tödlichem Ausgang.

In zahlreichen europäischen und außereuropäischen Kliniken wurde das Persedon als Schlafmittel geprüft und als wirksam und unschädlich befunden. Trotz vieler Millionen verbrauchter Tabletten während der letzten 8 Jahre wurden außerhalb USA keine Agranulozytosefälle bekannt. Der Prozentsatz der in USA beobachteten Agranulozytosefälle ist im Vergleich zur Gesamtmenge des verbrauchten Mittels verschwindend klein. Diese Tatsachen deuten darauf hin, daß in Amerika besondere Verhältnisse vorliegen dürften, die zum Teil auch dadurch begründet sind, daß dort der Gebrauch verschiedenartigster zur Sensibilisierung führender Medikamente wie von Sulfonamiden, Antihistaminika usw. außerordentlich verbreitet ist. Nach der Vermutung Cocas ist eine „allergische Reaktivität", die insbesondere als Nahrungsallergie zum Ausdruck kommt, bei 70—80% der amerikanischen Bevölkerung anzunehmen (Doerr[5]). Im Sinne dieser Annahme spricht auch die Tatsache, daß in Dänemark, in den Jahren 1947—1949, 2 Tonnen Persedon verbraucht wurden, ohne daß ein einziger Fall von Agranulozytose gemeldet wurde, während nach Verbrauch von 2 Tonnen Aminopyrin in den Jahren 1935—1936 30 Agranulozytosefälle bekannt wurden.

Schon eingangs wurde betont, daß die medikamentös bedingte Agranulozytose überhaupt zu den seltenen Vorkommnissen gehört. Ungeachtet des von zahlreichen Autoren bewiesenen Zusammenhanges der Agranulozytose mit Aminopyrin und Barbituraten (Nickau[13], Bock[14], Plum[15], Rohr[16], Henning[17], Klima[18], Kracke[6] und Madison[7]) werden diese Medikamente in Europa ohne Bedenken verordnet und gebraucht. Für das Persedon liegen auch nach den ausgedehnten klinischen Prüfungen in Europa keinerlei Anhaltspunkte für Blutschäden vor (Wilbrandt und Jäger[8], Koppanyi u. Mitarb.[9], Baker u. Mitarb.[10], Polatin und Horowitz[11] und Freed[12]).

Auch die Untersuchungen mit *Äthylphenylbarbitursäure* ließen Wirkungen auf die Leukopoese in ähnlicher Art wie durch Persedon erkennen. Bei ausschließlich mit Äthylphenylbarbitursäure vorbehandelten Tieren ergab sich eine Leukopenie mit Abnahme der Neutrophilen. In anderen Versuchen kam es ähnlich wie mit Persedon zu einer gewissen Reizung der Leukopoese mit Neutrophilie und Lymphozytopenie. Auch dies hat mit Agranulozytose nichts zu tun. Ähnliche Befunde wurden für *Allylisopropylbarbitursäure* erhoben. *Diphenylhydantoin* rief hingegen eine deutliche Leukopenie hervor, besonders wenn es wiederholt gegeben wurde.

Die Lymphozyten sanken entsprechend ab, was auf eine direkte Schädigung der Leukopoese zurückzuführen ist. *Diallylazetureid* führte zu geringer Senkung der Leukozytenzahlen. *Allylisopropylazetureid* hatte im akuten Versuch nach hohen Dosen Leukopenie mit Neutropenie zur Folge, hingegen im Sensibilisierungsversuch nur unwesentliche Änderungen der Leukozytenzahlen und der qualitativen Verteilung.

Hieraus ist der Schluß zu ziehen, *daß alle im Tierexperiment untersuchten Schlafmittel einen mehr oder weniger starken Einfluß auf die Leukopoese aufweisen, ohne daß jedoch eine Agranulozytose mit selektivem Mangel an Neutrophilen beobachtet werden kann.*

Eine Erklärung für die verschiedenartige Wirkung der untersuchten Ureide zu geben, ist schwer. Am ehesten läßt sich denken, daß Schädigungen der Gewebe um so geringer sind, je kürzere Zeit die Substanzen im Organismus zurückgehalten werden, was mit der Löslichkeit der Verbindungen in Wasser oder Öl zusammenhängt. Je schwerer die Löslichkeit, desto größer soll auch die Haftfestigkeit sein. Dies stimmt mit unseren Befunden mit Persedon, Zyklohexenyl-äthyl-barbitursäure, Allylisopropylbarbitursäure als relativ leicht löslichen und Äthylphenylbarbitursäure, Allylisopropylazetureid als schwerer löslichen Verbindungen bis zu einem gewissen Grade überein. Außerdem ist sicher die sogenannte „Organotropie" für die Wirkung auf die verschiedenen Organe und das Blut von Bedeutung, wie aus den Befunden mit Diallylazetureid, Diphenylhydantoin (vorwiegend Leber und Nervenschädigungen) und mit Allylisopropylbarbitursäure und Allylisopropylazetureid (mehr oder weniger ausgeprägte Blut- und Gefäßalterationen) hervorgeht.

Ob Medikamente als Allergene wirken, soll von ihrer Fähigkeit abhängen, sich im Organismus mit körpereigenem Eiweiß zu koppeln. Dies trifft für sehr zahlreiche Verbindungen zu, so daß praktisch fast alle Medikamente eine Allergie hervorrufen können, wenn eine allergische Konstitution vorliegt, was von vornherein nicht übersehbar ist.

Zusammenfassung.

Die Wirkung von 3,3-Diäthyl-2,4-dioxotetrahydropyridin (Persedon), Phenyläthylbarbitursäure, Allylisopropylbarbitursäure, Zyklohexenyläthylbarbitursäure, Diphenylhydantoin, Diallylazetureid und Allylisopropylazetureid auf die Hämatopoese wurde tierexperimentell bei einmaliger und wiederholter Verabreichung sowie im Sensibilisierungsversuch geprüft.

Ausgesprochene *Anämie* entwickelte sich mit keinem der genannten Präparate.

Thrombopenie, zum Teil mit hämorrhagischer Diathese, ließ sich im Sensibilisierungsversuch mehr oder weniger ausgeprägt mit Phenyläthylbarbitursäure, Diphenylhydantoin und Allylisopropylazetureid am

Kaninchen und an der Ratte hervorrufen, dagegen *nicht* mit 3,3-Diäthyl-2,4-dioxotetrahydropyridin (Persedon), Allylisopropylbarbitursäure und Diallylazetureid.

Leukopenie entwickelte sich im Tierexperiment nach Persedon, Phenyläthylbarbitursäure, Diphenylhydantoin, Diallylazetureid und Allylisopropylazetureid mehr oder weniger ausgeprägt.

Agranulozytose mit selektivem Mangel der Neutrophilen konnte im Tierversuch mit keiner der untersuchten Verbindungen, auch nicht durch Sensibilisierung hervorgerufen werden.

Die ausschließlich in U. S. A. beobachteten Fälle von Agranulozytose infolge von Persedon sind wahrscheinlich durch den hohen Sensibilisierungsgrad der amerikanischen Bevölkerung bedingt.

Literatur.

[1a] Jürgens, R., u. A. Studer,: Acta Haematol. **5**, H. 2, 1951 (i. Druck). — [1] Jürgens, R.: Klin. Wschr. **13**, 97 (1934). — [2] Ehrlich, M. E., u. L. N. Sussman: J. Amer. med. Assoc. **141**, Nr. 2, 132 (1949). — [3] Tyson, T. L.: J. Amer. med. Assoc. **141**, Nr. 2, 128 (1949). — [4] Covner, A. H., u. S. L. Halpern: New England J. of Med. **242**, Nr. 2, 49 (1950). — [5] Doerr, R.: Helv. med. Acta 484, 1946. — [6] Kracke, R. R.: Amer. J. clin. Path. **1**, 385 (1931). — [7] Madison, R. W., u. T. L. Squier: Amer. J. med. Assoc. **102**, 755 (1934). — [8] Wilbrandt, R., u. A. Jaeger: Helv. Med. Acta **15**, 203 (1948). — [9] Koppanyi, T., R. P. Herwick, C. R. Linega u. R. H. K. Foster: Arch. internat. Pharmacodynamie **64**, 123 (1940). — [10] Baker u. Mitarb.: Christ-Hospital, Med. Bull. Cincinnatti, 80, 1949. — [11] Polatin, P., u. W. A.: Horowitz: Psychiatr. Quart. **21**, 107 (1947). — [12] Freed, S. C.: J. Labor. a. clin. Med. **32**, 895 (1947). — [13] Nickau, B.: Kongreßverhdl. dtsch. Ges. inn. Med. 219, 1935. — [14] Bock, H. E.: Zbl. inn. Med. **56**, 285 (1935). — Fschr. Therapie **13**, 537 (1937). — [15] Plum, P.: Agranulocytosis, Kopenhagen-London 1937. — [16] Rohr, K.: Das menschliche Knochenmark, 2. Aufl. Stuttgart: Verlag Thieme 1949. — [17] Henning, N.: Med. Klinik **16**, 542 (1936). — Henning, N., u. H. Keilhack: Erg. inn. Med. **56**, 372 (1939). — [18] Klima, R.: Sternalpunktion und Knochenmarksbild bei Blutkrankheiten. Berlin-Wien: Urban Schwarzenberg 1938.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 456—462 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg/Lahn.

Der Einfluß von Strophanthin auf die Vaguserregbarkeit des normalen und geschädigten Warmblüterherzens.

Von

FRITZ HEIM und ALFRED BÄNDER.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. September 1950.)

Vagusreizversuche am Ganztier und Stoffwechselversuche von H. GREMELS[1] am isolierten Herz-Lungenpräparat scheinen die STRAUBsche[2] Auffassung von der Sensibilisierung des Herzens gegenüber dem Vagus durch Digitalis und Strophanthin zu bestätigen. Demgegenüber konnten neuerdings HOHENSEE und LENDLE[3] in der „therapeutischen Phase" der Strophanthinwirkung eine Empfindlichkeitssteigerung des Kaltblüterherzens gegenüber Vagusreizen, bzw. Azetylcholin und Doryl nicht feststellen. Erst in der toxischen, mit hochgradiger Bradykardie einhergehenden Phase der Glykosidwirkung konnten sie eine verstärkte Vaguswirkung beobachten. Sie geben in ihrer kritischen Stellungnahme zu den bisher erschienenen, die Beziehung zwischen Digitalis und Vagus betreffenden Untersuchungen zu bedenken, daß Digitalis und Strophanthin in therapeutischen Dosen an gesunden Herzen ohne Einfluß auf Frequenz und Herzleistung sind und erklären, in Übereinstimmung mit Klinikern, die am insuffizienten Herzen bereits bei therapeutischer Dosierung auftretende Bradykardie nicht mehr als Zeichen einer verstärkten Vaguswirkung, sondern als Folge verbesserter Kreislaufbedingungen.

Ebenso wie die Ansprechbarkeit des Herzens gegenüber Digitalis und Strophanthin generell, könnte auch die Vagus-sensibilisierende Wirkung dieser Herzglykoside vom jeweiligen *Funktionszustand* des Herzens abhängig sein. Wir haben deshalb an gesunden und funktionell geschädigten Warmblüterherzen vor und nach Verabreichung therapeutischer Strophanthindosen die Vaguserregbarkeit untersucht.

Methodik.

Die Versuche an ungeschädigten Herzen wurden an Katzen durchgeführt, die mit 70—80 mg/kg Körpergewicht Chloralose narkotisiert waren. Um kreislaufgeschädigte Tiere zu erhalten, wurden sie vor dem eigentlichen Versuch 24 Std ohne Wärmeschutz in tiefer Pernoctonnarkose gehalten. Nach den Befunden von M. VOGT[4] zeigt Pernocton unter 10 bekannten Barbitursäurederivaten bei gleicher

narkotischer Wirksamkeit die stärksten herzschädigenden Wirkungen. Um eine weitere Herzschädigung zu erreichen, wurden während des eigentlichen Versuchs intravenöse Dauerinfusionen mit Pernocton-Ringer-Lösung durchgeführt. Auch durch wiederholte Aderlässe sollten Herzschädigungen erzielt werden. Die Methoden der Vagusreizung, der Registrierung der Frequenz des rechten Vorhofs mittels des Fleischschen Ordinatenschreibers und der Bestimmung des arteriellen Drucks wurden bereits früher (Heim[5]) mitgeteilt. Notwendig ist die Verwendung versenkbarer Elektroden, die gegenüber dem umgebenden Gewebe isoliert sind. Ebenso müssen der Feuchtigkeitsgrad an der Nervenreizstelle und der Druck, mit dem der Nerv auf den Elektroden liegt, während des ganzen Versuchs absolut konstant gehalten werden, weil sich sonst „scheinbare" Erregbarkeitsänderungen ergeben. Der linke Vagus blieb in allen Versuchen intakt, der rechte Vagus wurde 1½ Std vor Beginn der Reizversuche durchschnitten und am peripheren Stumpf gereizt. Die Reizdauer betrug stets 1,5 sec, die Anodenspannung des Schwingungskreises 70 Volt, die Heizspannung 4 Volt. 1 mm Ordinatenhöhe entspricht $^1/_{50}$ sec.

Versuche.

Vor und in kürzeren zeitlichen Abständen bis zu 4 Std nach der intravenösen Verabreichung von 10—20 γ Strophanthin/kg Körpergewicht wurden die Änderungen der Ansprechbarkeit des rechten Vorhofs gegenüber rechts- und linksseitigen Vagusreizen geprüft.

Eine ausführliche Begründung, warum nur die Messung der Änderung der Reizschwelle des peripheren Vagusstumpfs Auskunft geben kann über Änderungen der Ansprechbarkeit der Erfolgsorganzellen gegenüber Vagusreizen und andererseits Änderungen in der Reizschwelle des intakten Vagus im wesentlichen nur als Kriterium der Höhe des jeweils bestehenden Vagustonus gewertet werden können, hat Heim[6] in einer früheren Arbeit bereits gegeben.

Die normalen Reizschwellen am rechten peripheren Vagusstumpf = r.p.V. liegen in unseren Versuchen zwischen 0,05—0,001 mA um das 10—100fache unter den von Gremels[1] festgestellten, vielleicht deshalb, weil Gremels im Gegensatz zu uns den Halsvagus nicht vom Sympathikus getrennt und so stets den vereinten Vago-Sympathikus gereizt hat. Die genannten Strophanthindosen verändern am ungeschädigten Herzen weder die Frequenz des rechten Vorhofs noch auch seine Ansprechbarkeit gegenüber Reizen des intakten linken bzw. rechten peripheren Vagusstumpfs. Der Blutdruck bleibt nach Strophanthin entweder unverändert oder er steigt um 10—20 mm Hg an. Auch nach mehrfachen mit erheblicher Blutdrucksenkung einhergehenden Aderlässen wurde durch Strophanthin die Erregbarkeit des Herzens gegenüber Vagusreizen nicht beeinflußt.

Tiere, die vor dem eigentlichen Versuch 24 Std in tiefer Pernoctonnarkose gehalten worden waren, zeigten als Symptom einer bestehenden Kreislaufschädigung eine starke venöse Stauung, die bis zum rechten Vorhof reichte. Intravenöse Pernoctondauerinfusionen bewirkten unter Abnahme der Herzfrequenz, Sinken des arteriellen Drucks und Zunahme

der venösen Stauung eine weitere Herzschädigung. Der Einfluß von Strophanthin auf die Ansprechbarkeit derart geschädigter Herzen gegenüber Vagusreizen soll an 2 Versuchsbeispielen erörtert werden.

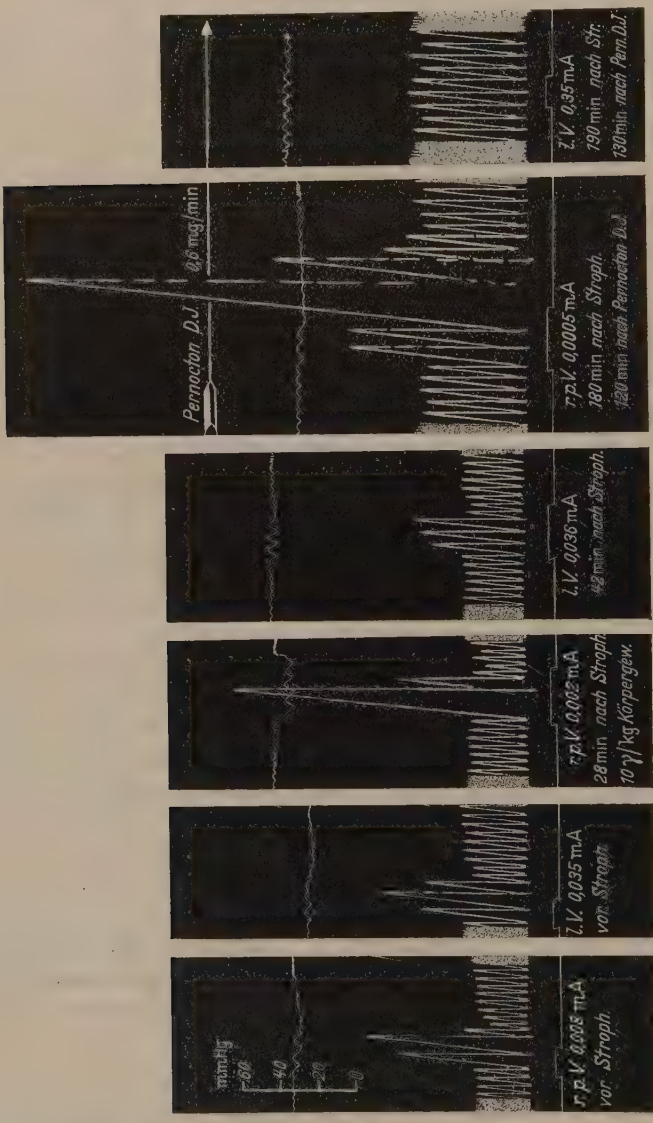


Abb. 1. Katze 2250 g. Narkose von 24 Std Dauer mit 100 mg/kg Körpergewicht Pernocton. Oben: Druck in der Art. femoral. Unten: Frequenz des rechten Vorhofs. 1 mm Ordinatenhöhe = $^1/_{50}$ sec. *L. V.* linker intakter Vagus. *r. p. V.* rechter peripherer Vagusstumpf. Dauer der Vagusreizung 1,5 sec.

Bei dem in Abb. 1 dargestellten Versuch erhielt das Tier während einer 24stündigen Vornarkose insgesamt 100 mg Pernocton/kg Körpergewicht. Die vor Strophanthin auf linksseitige Vagusreizung mit 0,035 mA und Reizung des r.p.V. mit

0,008 mA eintretenden Änderungen in der Vorhofsfrequenz sind aus Abb. 1a u. b zu ersehen. Nach 10 γ/kg Körpergewicht Strophanthin i. v. steigt der Blutdruck maximal um 18 mm Hg an. Die Herzfrequenz bleibt unverändert. Die Ansprechbarkeit des rechten Vorhofs gegenüber rechtsseitigen Vagusreizen nimmt zu, gegenüber linksseitigen bleibt sie, jedenfalls innerhalb der ersten 45 min nach Strophanthin unverändert, wie aus Abb. 1c und d zu ersehen ist. 60 min nach Strophanthin wurde mit einer intravenösen Dauerinfusion von 0,6 mg/min Pernocton begonnen. Während der D.I. sinken Blutdruck (von 40 auf 25 mm Hg) und Herzfrequenz (von 186 auf 108/min) als Folge der Pernoctonschädigung. Die Empfindlichkeit des Herzens gegenüber rechtsseitigen Vagusreizen wird durch die Dauerinfusion noch weiter gesteigert. 180 min nach der Strophanthininjektion und 120 min nach Beginn der Pernoctondauerinfusion ist, wie aus Abb. 1e hervorgeht, mit 0,0005 mA ein stärkerer bradykardischer Effekt zu erzielen als im Vorversuch mit der 16 mal höheren Reizintensität. Gegenüber linksseitigen Vagusreizen dagegen wird das Herz zunehmend unempfindlicher und 190 min nach Strophanthin bzw. 130 min nach Beginn der Dauerinfusion sind am linken Vagus Reizintensitäten bis zu 0,35 mA vollkommen unwirksam (Abb. 1f). Eine weitere Stunde später ist der linke Vagus vollkommen

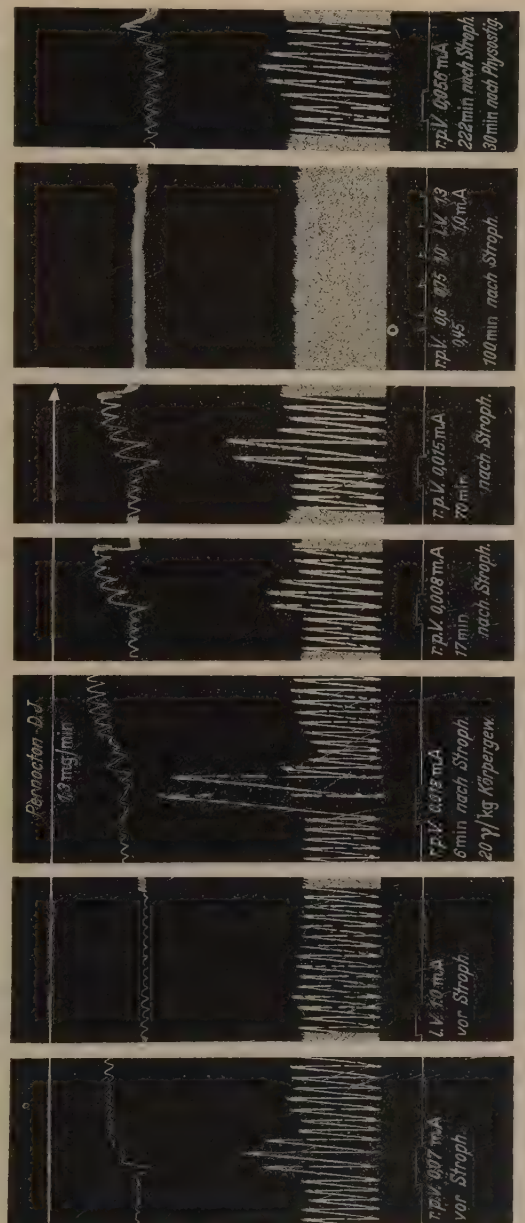


Abb. 2. Katze 3400 g. Narkose von 24 Std Dauer mit 184 mg/kg Körpergewicht Pernocton. Im übrigen wie Abb. 1.

unerregbar und die Ansprechbarkeit des Herzens gegenüber rechtsseitigen Vagusreizen hat ebenfalls abgenommen.

Bei dem in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch erhielt das Tier innerhalb 24 Std insgesamt 134 mg/kg Körpergewicht Pernocton subkutan. Bereits 1 Std vor der Strophanthingabe wurde mit einer intravenösen Pernoctondauerinfusion von 1,3 mg/min begonnen. Der arterielle Druck sinkt während dieser Zeit um 19 mm Hg, die Herzfrequenz von 228 auf 156/min. Auf die Vaguserregbarkeit jedoch ist die Pernoctoninfusion ohne Einfluß. Abb. 2a und b zeigen die Änderungen der Vorhofsfrequenz und des arteriellen Drucks bei Reizung des r.p.V. mit 0,09 bzw. 0,07 mA. Jede Vagusreizung wird bei diesem Tier nach einer kurzen initialen Blutdrucksenkung mit einer wesentlich länger dauernden reaktiven Blutdrucksteigerung beantwortet. Die Reizschwelle des linken Vagus liegt mit 1,0 mA sehr hoch. Diese Reizintensität bewirkt eine eben noch sichtbare Erhöhung der Ordinatenzeitkurve, wie aus Abb. 2c hervorgeht. Auf eine Steigerung der Reizintensität über 1,0 mA wurde in der Regel verzichtet, um mögliche irreversible Änderungen in der Erregbarkeit der vegetativen Nerven zu vermeiden. Nach 20 γ/kg Körpergewicht Strophanthin i. v. steigt der Blutdruck innerhalb weniger Minuten bei Fortdauer der Pernoctoninfusion um maximal 22 mm Hg an. Die Vorhofsfrequenz bleibt unverändert. Doch nimmt ihre Ansprechbarkeit gegenüber Reizen des r.p.V. erheblich zu. 6 min nach der Strophanthininjektion entspricht der Reizerfolg von 0,018 mA dem von 0,09 mA vorher (Abb. 2d). 17 min nach Strophanthin sind 0,008 mA fast wirkungsgleich und 0,07 mA vorher (Abb. 2e). Noch 70 min nach Strophanthin wird mit 0,015 mA der gleiche Reizerfolg erzielt wie vorher mit einer 5fach höheren Reizintensität (Abb. 2f). Dann wird das Herz gegenüber Reizen des r.p.V. zunehmend unerregbarer und 1 Std 40 min nach der Strophanthininjektion kann selbst mit Intensitäten bis zu 1,0 mA eine Wirkung auf die Vorhofsfrequenz und den Blutdruck nicht mehr erzielt werden. Die Reizschwelle des linken Vagus bleibt nach Strophanthin anfangs unverändert. Zusammen mit dem r.p.V. wird dann auch der linke Vagus zunehmend unerregbarer. In diesem Stadium, in dem die Reizschwelle beider Vagi über 1,0 mA lag (Abb. 2g), wurden 24 γ/kg Körpergewicht Physostigmin gegeben. 30 min danach ist am r.p.V. mit 0,056 mA — das ist die Reizschwelle des r.p.V. vor Strophanthin — wieder eine Abnahme der Vorhofsfrequenz und reaktive Blutdrucksteigerung zu erzielen (Abb. 2h). Auch auf linksseitige Vagusreize spricht das Herz nun wieder an. Nach Abklingen der Physostigminwirkung wird es beiden Vagi gegenüber wieder unerregbar. Nach Durchschneidung des linken Vagus bleibt die Unerregbarkeit des Herzens rechtsseitigen Vagusreizen gegenüber bestehen.

Den in Abb. 1 und 2 wiedergegebenen Versuchen entnehmen wir, daß durch Herz und Kreislauf schädigende Maßnahmen (vorausgegangene langdauernde Narkose, Abkühlung, zusätzliche intravenöse Pernoctondauerinfusion) das Herz in einen Zustand versetzt wird, in dem es auf therapeutische Strophanthindosen nicht nur mit einer Leistungsverbesserung (Blutdrucksteigerung), sondern — nun im Gegensatz zum nicht oder unzureichend geschädigten Herzen — auch mit einer erhöhten Ansprechbarkeit gegenüber Vagusreizen reagiert. Diese 1—3 Std anhaltende Phase der „Vagussensibilisierung" geht dann über in das Stadium der abnehmenden Vaguserregbarkeit des Herzens. Da Erregbarkeit und Erregungszustand in einem reziproken Verhältnis zueinander stehen, so weist die Abnahme der Erregbarkeit auf eine Erhöhung des Vagustonus hin. Er könnte zentraler oder peripherer Natur sein. Für

letztere Annahme spricht der selektive Angriffspunkt des Strophanthins am Herzen, die Beobachtung, daß nach Durchschneidung des linken Vagus, d. h. nach vollständiger Trennung des Erfolgsorgans vom Zentrum das Herz sich gegenüber Reizen des peripheren rechten Vagusstumpfs unverändert refraktär verhält, daß drittens das in kleinen Dosen ausschließlich peripher wirkende Physostigmin für die Dauer seiner Wirksamkeit die normale Vaguserregbarkeit des Herzens wieder herzustellen vermag. Ist eine bei der Vagusreizung an den peripheren Endigungen im Erfolgsorgan entstehende bestimmte Azetylcholinmenge infolge eines erhöhten peripheren Vagustonus, d. h. infolge des hohen Erregungszustandes der Erfolgsorganzelle für diese unterschwellig geworden, so kann die in Gegenwart des Physostigmins sich erhöhende Überträgerstoffkonzentration vorher unterschwellige Vagusreize wieder wirksam werden lassen.

Unsere Befunde finden eine Parallele zu experimentellen und klinischen Beobachtungen, daß die Leistungsfähigkeit und Frequenz ungeschädigter bzw. gesunder Herzen durch therapeutische Digitalis- und Strophanthindosen nicht zu beeinflussen sind und das Wirksamwerden dieser Glykoside eine vorausgegangene Schädigung oder Erkrankung des Herzens voraussetzt. Den Beobachtungen von Hohensee und Lendle entspricht unsere Feststellung, daß ungeschädigte, bzw. ungenügend geschädigte Warmblüterherzen eine eindeutige Vagussensibilisierung durch therapeutische Strophanthindosen vermissen lassen. Doch auch am isolierten Kaltblüterherzen tritt die therapeutische Strophanthinwirkung meist nur dann in Erscheinung, wenn es hochgradig ermüdet, bzw. durch häufiges Auswaschen oder Anwendung Ca-armer Ringer-Lösung vorher geschädigt wurde. Das von Gremels verwendete isolierte Herz-Lungenpräparat kann man infolge Ausfalls jeder Innervation und Hormonwirkung und Abtrennung von Leber und Milz a priori als geschädigt ansehen. Nach H. Rein[7] ist die Bedeutung der Leber für die Energetik und Dynamik des Säugetierherzens so groß, daß „nach Abschaltung der Leber der Herzmuskel innerhalb weniger Minuten fortschreitend insuffizient wird". Der jeweilige Funktionszustand des Herzens entscheidet nach unseren Beobachtungen also auch darüber, ob das Herz durch Strophanthin gegenüber Vagusreizen sensibilisiert wird oder nicht.

Zusammenfassung.

Durch 24stündige Pernoctonnarkosen und intravenöse Pernoctondauerinfusionen geschädigte Herzen zeigen im Gegensatz zu ungeschädigten in den ersten Stunden nach 10—20 γ/kg Körpergewicht Strophanthin i. v. eine ohne Änderung der Frequenz einhergehende erhöhte Ansprechbarkeit auf Reize von seiten des peripheren Vagusstumpfs. Die Reizschwelle des intakten Vagus bleibt dabei meist unverändert oder

nimmt zu. Wird das Herz anschließend gegenüber Reizen sowohl des durchschnittenen als auch des intakten Vagus zunehmend unerregbarer, so kann durch Physostigmin die normale Vaguserregbarkeit vorübergehend wieder hergestellt werden.

Literatur.

[1] Gremels, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **179**, 260 (1935); **186**, 625 (1937). — [2] Straub, W.: Heffter's Handbuch d. exper. Pharmakol. Bd. II/2 S. 1419. — [3] Hohensee, F., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 388 (1949). — [4] Vogt, M.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **152**, 341 (1930). — [5] Heim, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 277 (1951). — [6] Heim, F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **196**, 51 (1940). — [7] Rein, H.: Klin. Wschr. **1942**, 873.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 463—471 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin.

Zur Pharmakologie und Toxikologie chlorierter Cyclohexane.

Von

H. Coper, H. Herken und J. Klempau.

(Eingegangen am 16. Oktober 1950.)

Verschiedene Beobachtungen bei der Untersuchung chlorierter Cyclohexane haben uns veranlaßt, die Wirkung der einzelnen Isomeren am Warmblüter genauer zu analysieren. Der auffallende Befund, daß eine einmalige orale Gabe von Hexachlorcyclohexan die Auslösung von Cardiazolkrämpfen innerhalb eines längeren Zeitraumes verhindert, läßt darauf schließen, daß diese Substanzen für den Warmblüter nicht so harmlos sind, wie bisher angenommen wurde[1]. Bei Verwendung von Lipoidlösungsmitteln war nicht nur das als Kontaktinsektizid bekannt gewordene Gamexan wirksam, sondern auch die α- und β-Komponente[2] und, wie wir später noch zeigen, auch das δ-Isomere.

Bei der Vergiftung von weißen Ratten mit hohen Dosen entwickeln sich zentralnervöse Symptome, die bei dem γ-Isomeren in generalisierten Krämpfen, bei der β-Komponente in Lähmungen und einer eigenartigen Schlaffheit der gesamten Muskulatur bestehen. Bei dem α-Isomeren läßt sich einige Tage nach der Verabreichung hoher Dosen ein feinschlägiger Tremor der Extremitäten erkennen, der besonders deutlich wurde, wenn die Tiere am Schwanz hochgehoben wurden. Diese Erscheinung ist auch für die Vergiftung mit dem technischen Produkt typisch und wurde als besonders lang anhaltendes Vergiftungssymptom sowohl von L. Lendle und H.-H. Schneider[3] wie von uns[4] beschrieben. Der Befund ist verständlich, denn die technischen Präparate bestehen im allgemeinen zu fast 70% aus dem α-Isomeren.

Die technische Substanz, die neben den Hexachlorcyclohexanen auch höher chlorierte Kohlenwasserstoffe enthält, hat ebenfalls krampfbehindernde Eigenschaften. Legt man diesen Test zur Beurteilung der Wirkung zu Grunde, so läßt sich aus dem Ablauf der Reaktion erkennen, daß der Antagonismus gegenüber Cardiazol nicht allein durch die α-Komponente hervorgerufen wird. Dieser Schluß ergibt sich aus einem Vergleich mit den Ergebnissen, die mit den reinen Isomeren erhalten wurden. Bei dem α-Isomeren wird der Höhepunkt der Wirkung bereits am 4. Tage erreicht. Nach 8 Tagen läßt sich keine Krampfhemmung mehr nachweisen. Die folgende Tabelle enthält eine Gegenüberstellung solcher Versuche, aus denen auch hervorgeht, daß kleinere Dosen der reinen Isomeren allein fast wirkungslos sind. Frühere Versuche wurden erweitert und durch Hinzuziehung der δ-Komponente ergänzt. Die Dosis von

80 mg/kg Cardiazol, rief nach subkutaner Injektion bei *allen* behandelten Kontrolltieren einen typischen, sicher zu reproduzierenden generalisierten Krampfanfall hervor.

Tabelle 1*. *Cardiazolversuche nach einmaliger Vorbehandlung mit Hexachlorcyclohexan.*

Nr.	HCH-Dosis in mg/kg (oral) Lösung in Rapsöl	Cardiazol 80 mg/kg subkutan	Zeitl. Abstand zwischen HCH- und Cardiazolgaben in Tagen	Zahl der Versuchstiere	Zahl der Tiere mit Cardiazolkrämpfen.
1.	200 Techn. Produkt Susp. in Rapsöl. . . .	1. Inj.	4	8	3
		2. Inj.	8	8	5
		3. Inj.	12	7	7
2.	40 γ-Isomeres.		5	8	7
3.	60 γ-Isomeres.	1. Inj.	3	7	3
		2. Inj.	6	7	4
4.	80 γ-Isomeres.	1. Inj.	4	7	3
		2. Inj.	8	7	4
		3. Inj.	12	7	6
5.	50 β-Isomeres.		4	6	6
6.	100 β-Isomeres.	1. Inj.	4	15	11
		2. Inj.	7	15	7
		3. Inj.	14	15	13
7.	100 α-Isomeres.		5	8	7
8.	150 α-Isomeres.	1. Inj.	4	16	0
		2. Inj.	8	16	16
9.	80 δ-Isomeres.	1. Inj.	5	8	7
		2. Inj.	8	8	5
		3. Inj.	14	8	8

* Tab. 1 und 6 Naturwiss. **1950**, 493.

Für die weiteren Untersuchungen über die neurotropen Eigenschaften der Hexachlorcyclohexane schien es uns wichtig, festzustellen, in welchem Umfang sich die Wirkungen der einzelnen Komponenten untereinander beeinflussen. Im Verlauf von Toxizitätsbestimmungen an Hunden hatten McNamara und St. Krop[5] auf einen Antagonismus zwischen δ- und γ-Isomeren hingewiesen. Das δ-Isomere hatte eine prophylaktische Wirkung, wenn die Verabreichung 15 min vor der tödlichen Gammexan-Injektion geschah. L. Lendle und H.-H. Schneider[3] lehnten eine gegenseitige Beeinflussung der einzelnen Komponenten ab, da die γ-Fraktion bei oraler Zufuhr an Ratten 8mal so wirksam war wie das technische Produkt mit etwa 15% der γ-Komponente. Sie berücksichtigten hierbei allerdings nicht, daß das Vergiftungsbild mit dem technischen Präparat

nicht der Vergiftung mit Gammexan entsprach. Eine einwandfreie Klärung dieser Frage schien uns im Hinblick auf die beobachteten langanhaltenden Wirkungen der Hexachlorcyclohexane für weitere Untersuchungen besonders wichtig. Als Ausgangspunkt für solche Versuche haben wir zunächst Toxizitätsbestimmungen mit reinen Isomeren bei oraler und intraperitonealer Verabreichung durchgeführt, da die in der Literatur niedergelegten Ergebnisse auffallend voneinander abwichen.

Tabelle 2. *Toxizität verschiedener Hexachlorcyclohexane in öliger Lösung (Rapsöl).*

	Dosis in mg/kg oral	Zahl der Versuchstiere	hiervon starben	%	Dosis in mg/kg intraperitoneal	Zahl der Versuchstiere	hiervon starben	%
γ-Isomeres	80	16	2	12	70	10	3	33
	120	10	3	33	80	8	5	63
	150	9	5	56	100	10	8	80
β-Isomeres	100	16	1	6	100	6	0	
	150	15	3	20	120	6	0	
					160	6	0	
α-Isomeres	150	16	0		300	6	0	
	200	8	3	38				

Bei der Prüfung der tödlichen Wirkung des γ-Isomeren zeigte sich bei intraperitonealer Injektion erwartungsgemäß eine größere Giftigkeit als bei oraler Verabreichung. Beim β- und auch beim α-Isomeren ist es eher umgekehrt. Für dieses merkwürdige Verhalten kann noch keine befriedigende Erklärung abgegeben werden. Wie sich später noch zeigen wird, ist der Grund anscheinend nicht in mangelhafter Resorption zu suchen. Eine exakte Ermittlung der tödlichen Wirkung wird durch die schlechte Löslichkeit der β-Komponente in Öl sehr erschwert. Das α-Isomere ist besser löslich, aber zweifellos weniger giftig, so daß unter diesen Versuchsbedingungen auch hier keine genauen Angaben über die Toxizität gemacht werden konnten. Zu große Mengen des Lösungsmittels (Rapsöl) führten immer zu Durchfällen, die die Resorption störten, und damit die Giftigkeit herabsetzten. Junge Tiere vertrugen übrigens das β-Isomere auffallend schlecht. Von 8 Tieren im Gewicht von 100 g starben 4 bei einer Dosis von 100 mg/kg. Die im Schrifttum niedergelegten tödlichen Dosen (LD 50) von 2—6 g(!)/kg für das β-Isomere[6] und von 1,5 g/kg für das α-Isomere erscheinen korrekturbedürftig.

Für die weiteren Versuche haben wir nun die für unser Tiermaterial geltende LD 50 des γ-Isomeren, gelöst in verschiedenen Lösungsmitteln, bei intraperitonealer Injektion bestimmt, und das Problem einer gegenseitigen Beeinflussung mit Hilfe der akuten Gammexanvergiftung

studieren zu können. Die Werte wurden aus Serien von jeweils 30—60 Tieren, die in Gruppen von 8—10 Ratten unterteilt waren, nach der Formel von Behrens und Kärber[7] ermittelt.

Tabelle 3. *Toxizität von Gammexan in verschiedenen Lösungsmitteln bei intraperitonealer Injektion.*

Lösungsmittel	LD 50 in mg/kg
Paraffin	35
Rapsöl	75
Lebertran	80
Olivenöl	85

Es wurde schon früher beobachtet, daß die Lösung von Gammexan in Paraffin giftiger ist als in Rapsöl[1]. Auf Grund der physikalisch-chemischen Eigenschaften beider Flüssigkeiten hätte man eher ein umgekehrtes Verhalten erwartet, denn Paraffin wird bekanntlich schlecht resorbiert. Die bei der oralen und intraperitonealen Verabreichung des Gammexans erhaltenen Werte stimmen gut mit den Befunden von Lendle und Schneider[3], die eine orale Gabe von 100—200 mg/kg und eine intraperitoneale von 50 mg/kg für tödlich halten, sowie von Taylor[8] überein, der eine orale LD 50 von 190 mg/kg erhielt.

Da uns durch die früheren Untersuchungen mit zentralerregenden Pharmaka die lange Wirkungsdauer der Hexachlorcyclohexane bekannt war, haben wir zur Ermittlung von Gegenwirkungen den einmalig mit dem β- bzw. α-Isomeren vorbehandelten Tieren erst nach mehreren Tagen eine für mindestens 50% der Ratten tödliche Dosis Gammexan injiziert. Das γ-Isomere eignet sich auch deswegen gut zu Untersuchungen eines Antagonismus, weil eine peritoneal applizierte Dosis von 80 mg/kg in Rapsöl bei *allen* nicht vorbehandelten Tieren generalisierte Krämpfe hervorruft. Die früher beschriebene Hemmung der Cardiazolwirkung entwickelt sich erst am 3. Tage nach der Injektion des Gammexans. Vorher werden die Cardiazolkrämpfe verstärkt, so daß die meisten Tiere zu Grunde gehen[9]. Einen ähnlichen Synergismus beobachtete H.-H. Schneider[10] auch bei Versuchen mit Gammexan und elektrisch ausgelösten Krämpfen. Die im Abstand von mehreren Tagen aufeinanderfolgenden Injektionen des β- und γ-Isomeren brachten ein eindeutiges Ergebnis. *Alle* Tiere blieben am Leben (Tab. 4). Es traten keinerlei Vergiftungserscheinungen auf. Auffällig ist wieder die lange Dauer der Wirkung. Damit ist eindeutig ein *Antagonismus* bewiesen, der auch für die Vorbehandlung mit dem α-Isomeren gilt. Die Beobachtungen von McNamara und St. Krop[5] sowie von A. Barke [5a] werden damit im Prinzip bestätigt.

Tabelle 4. *Verminderung der Toxizität von Gammexan nach Vorbehandlung mit dem β- und α-Isomeren.*

Zahl der Versuchstiere	Dosis in mg/kg in Rapsöl i. p.	Zeitl. Abstand zwischen β oder α und γ HCH Gabe in Tagen	γ-Isomeres Dosis in mg/kg in Rapsöl i. p.	Hiervon starben oder bekamen Krämpfe
6	160 β-Isomeres . .	7	80	0
5	200 β-Isomeres . .	7	80	0
6	300 α-Isomeres . .	4	80	0

Bei dieser Versuchsanordnung blieb die Frage offen, ob sich der Antagonismus auch auf die krampfbehindernden Eigenschaften des Gammexans erstreckt. Es schien durchaus möglich, daß das γ-Isomere nach vorheriger Verabreichung der β- und α-Komponente überhaupt nicht mehr wirkt. Um dies zu klären, haben wir den Ratten anschließend 80 mg/kg Cardiazol subkutan verabreicht.

Tabelle 5. *Prüfung der krampfbehindernden Wirkung mit Cardiazol* (80 mg/kg subkutan).

Zahl der Versuchstiere Beginn des Versuchs	Dosis in mg/kg in Rapsöl i. p.	Zeitlicher Abstand zwischen beiden HCH-Gaben in Tagen	γ-Isomeres Dosis in mg/kg Rapsöl i. p.	Zeitl. Abstand zw. γ-HCH-Gabe und Cardiazol in Tagen	Zahl der Tiere mit Cardiazolkrämpfen	Zahl der Tiere am Ende des Versuchs
6	80	5	60	5	1	6
5	100	5	60	1. Inj. 5	0	5
	β-Isomeres			2. Inj. 14	2	
6	120	5	60	5	1	6
6	160	7	80	5	0	6
4	250	4	80	8	0	3*
6	α-Isomeres 300	4	80	8	0	6

* 1 Tier nach 14 Tagen tot.

Die Versuche zeigen, daß Gammexan nach Vorbehandlung mit dem β- u. α-Isomeren zur Wirkung kommt. Bei *verminderter Toxizität ist der Antagonismus gegenüber Cardiazol voll erhalten.* Noch nicht abgeschlossene Untersuchungen lassen darauf schließen, daß es sich bei dieser „Entgiftung" sehr wahrscheinlich um einen elektiven Vorgang von allgemeinerer Bedeutung handelt, bei dem die übrigen Wirkungen der untersuchten Pharmaka unverändert sein können. Ein weiterer Befund der Versuchsreihe mit dem β- und γ-Isomeren war bemerkenswert. 5 Tage nach der Verabreichung von Gammexan reagierten von den insgesamt 23 Tieren nur 2 mit Cardiazolkrämpfen. Eine solche Wirkung läßt sich durch intraperitoneale Injektion des β-Isomeren allein nicht erreichen. Der starke Effekt kann darauf beruhen, daß nach Vorbehandlung mit dem β-Isomeren größere Mengen Gammexan in den Organismus

gebracht werden konnten, ohne daß Vergiftungserscheinungen auftraten. Es ist aber auch ein Zusammenwirken der einzelnen Isomeren möglich. Zur Klärung dieser Frage haben wir daher die krampfbehindernde Wirkung bestimmter *Mischungen* der reinen Isomeren untersucht, die den Tieren *einmal* durch die Schlundsonde verabreicht wurden. Einzelheiten gehen aus der folgenden Tabelle hervor.

Tabelle 6*. *Versuche mit Cardiazol nach einmaliger Vorbehandlung mit Gemischen reiner Isomeren.*

Nr.	HCH-Dosis in mg/kg Rapsöl-Lösung (oral)	Cardiazol 80 mg/kg subkutan	Zeitlicher Abstand zwischen HCH- und Cardiazolgabe in Tagen	Zahl der Versuchstiere	Zahl der Tiere mit Krämpfen
1.	60 (γ) + 75 (α)	1. Inj.	5	8	7
		2. Inj.	10	8	6
		3. Inj.	14	8	7
2.	60 (γ) + 100 (δ)	1. Inj.	5	8	7
		2. Inj.	10	8	6
		3. Inj.	14	8	5
		4. Inj.	19	6	5
3.	60 (γ) + 50 (β)	1. Inj.	4	8	2
		2. Inj.	8	8	5
		3. Inj.	13	8	7
		4. Inj.	19	8	8
4.	60 (γ) + 50 (β)	1. Inj.	4	8	5
		2. Inj.	11	8	5
		3. Inj.	17	8	4
		4. Inj.	21	8	8
5.	60 (γ) + 50 (β)	1. Inj.	5	8	1
		2. Inj.	10	8	4
		3. Inj.	14	8	3
		4. Inj.	19	8	6
		5. Inj.	26	8	8
6.	40 (γ) + 50 (β)	1. Inj.	3	8	3
		2. Inj.	7	8	2
		3. Inj.	12	7	3
		5. Inj.	24	5	5
7.	40 (γ) + 50 (β)	1. Inj.	6	8	4
		3. Inj.	16	7	4
		4. Inj.	21	7	6
8.	75 (α) + 50 (β)	1. Inj.	4	7	4
		2. Inj.	7	7	2
		3. Inj.	22	5	5

* Tab. 1 und 6 Naturwiss. 1950, 493.

Bei dieser Versuchsanordnung ergaben sich nun sehr eigenartige Wechselwirkungen. Ein Vergleich mit den Werten der Tab. 1 zeigte eine *Verminderung* des krampfbehindernden Effektes von Gammexan bei

gleichzeitiger Verabreichung des α- bzw. δ-Isomeren. Der Befund steht in einem gewissen Gegensatz zu der oben erwähnten Feststellung, daß die intraperitoneale Vorinjektion des α-Isomeren keine Verminderung der Gammexanwirkung erkennen läßt. Allerdings waren die verabreichten Dosen in diesen Versuchen wesentlich höher. Verschiedene Beobachtungen sprechen überdies dafür, daß die Wirkungen nach oraler und intraperitonealer Injektion nicht gleich sind, wenn der krampfbehindernde Effekt als Test für die Wirkung zugrundegelegt wird. Wir haben schon früher die Möglichkeit diskutiert, daß die eigentlichen krampfhemmenden Substanzen wahrscheinlich erst im Organismus der Tiere entstehen. Bei der Kombination von β- und γ-Isomeren tritt ein einwandfreier *Synergismus* zu Tage[11]. Der Krämpfe behindernde Effekt ist gegenüber Versuchen mit den einzelnen Komponenten deutlich verlängert. Der klare Beweis für das Vorliegen des Synergismus wird aber vor allem dadurch erbracht, daß auch solche Dosen wirken, die *allein* die Cardiazolkrämpfe nicht verhindern können (vgl. Tab. 1).

Über Einzelheiten der Wirkungsweise ist fast nichts bekannt. Auf Grund konstitutioneller Ähnlichkeit sind Beziehungen zum Inositstoffwechsel schon frühzeitig angenommen worden. Doch sprechen manche Befunde gegen das Bestehen solcher Zusammenhänge. Es ist natürlich interessant, daß auch im Nervengewebe solche Hexa-oxycyclohexane vorkommen. I. Folch[12] konnte aus Gehirn ein Kephalin isolieren, daß an Stelle von Glyzerin Inosit enthielt. Über Reaktionen der Hexachlorcyclohexane mit diesen spezifischen Lipoiden, die sehr wahrscheinlich wichtige biologische Funktionen ausüben, liegen unseres Wissens keine Untersuchungen vor. Die Gehirnphosphatide zeichnen sich vor allem durch reichliche Mengen an sehr reaktionsfähigen ungesättigten Fettsäuren aus.

Von den chemischen Eigenschaften der Hexachlorcyclohexane interessiert in diesem Zusammenhang noch, daß sie unter alkalischen Bedingungen 3 Mol Chlorwasserstoff abspalten. Die Kinetik der Zersetzung der verschiedenen Isomeren wurde von T. B. La Clair, Kauer und Cristol[13] eingehender untersucht. Bei Prüfung der Zersetzungsgeschwindigkeit fanden Lutter, Koelbel, Ruschenburg und F. Lampe[14] in Übereinstimmung mit den Messungen der obengenannten Autoren, daß die Hydrolyse des α-Isomeren bei 20° schneller verläuft als die der übrigen Komponenten. Am langsamsten geht die Chlorwasserstoffabspaltung bei dem β-Isomeren vor sich.

Die Affinität zu den Zellen des Zentralnervensystems wird zweifellos durch die Struktur der Verbindungen bestimmt, wobei die differenzierten Wirkungen auf die Unterschiede in der räumlichen Anordnung der Cl- und H-Atome zurückgeführt werden müssen. Die Lipoidlöslichkeit der Substanzen begünstigt in hohem Maße das Eindringen in die Nerven-

zellen. Es ist natürlich noch sehr fraglich, ob irgendwelche Zusammenhänge zwischen der obenerwähnten Zersetzungsgeschwindigkeit und den beobachteten Funktionsänderungen im Zentralnervensystem bestehen. Doch dürfte der Hinweis von Interesse sein, daß der krampfbehindernde Effekt bei der chemisch labilsten Substanz, dem α-Isomeren, am schnellsten eintritt und auch sehr bald wieder verschwindet (vgl. Tab. 1).

Wir haben inzwischen auch ein höher chloriertes Cyclohexan untersuchen können. Bei der Prüfung von γ-Heptachlorcyclohexan, das nach Untersuchungen von G. Scheuing und C. Vogelbach[15] mit dem Hexachlorcyclohexan die chemische Eigenschaft gemeinsam hat, bei alkalischer Reaktion 3 Mol Chlorwasserstoff abzuspalten, fand sich nur ein schwacher Antagonismus gegenüber der krampferregenden Wirkung des Cardiazols. Die Verbindung ist weniger wirksam als die γ-Komponente der hexachlorierten Substanzen, allerdings auch weniger toxisch. Das bei der alkalischen Hydrolyse von Hexachlorcyclohexan entstehende Gemisch isomerer Trichlorbenzole konnte die Auslösung von Cardiazolkrämpfen nicht verhindern. Auch das Kontaktinsektizid DDT war völlig unwirksam.

Tabelle 7. *Cardiazolversuche mit anderen chlorierten Kohlenwasserstoffen.*

Chlorierter Kohlenwasserstoff	Dosis in mg/kg oral in Rapsöl	Cardiazol 80 mg/kg subkutan	Zeitl. Abstand zwischen Kohlenwasserstoffgabe und Cardiazol in Tagen	Zahl der Versuchstiere	Zahl der Tiere mit Cardiazolkrämpfen
γ-Heptachlorcyclohexan	80	1. Inj.	3	4	4
	120	1. Inj.	4	8	5
		2. Inj.	11	4	3
Trichlorbenzol . .	100	1. Inj.	5	8	7
Gesarol-Wirkstoff .	80	1. Inj.	5	8	8
	120 (Suspension in Öl)	1. Inj.	4	3	3

Zweifellos werden die chlorierten Cyclohexane im Organismus verändert. L. Lendle und H.-H. Schneider[3] konnten keine insektizide Substanz im Harn von Hunden nachweisen, die einige Tage mit dem technischen Produkt gefüttert worden waren. G. Woodard, B. Davidow und A. J. Lehmann[16] fanden nach Verabreichung des Hexachlorcyclohexans im Harn von Kaninchen 1,2,4-Trichlorbenzol. Zur Ergänzung der oben erwähnten Befunde dürfte daher die Prüfung von chlorierten Oxycyclohexanen von erheblichem Interesse sein.

Die auffallend lange anhaltenden Wirkungen einer einmaligen Applikation der Hexachlorcyclohexane legen natürlich den Gedanken nahe, diese Substanzen in der Therapie bestimmter Nervenerkrankungen zu versuchen, zumal bisher kein Pharmakon bekannt ist, das die Auslösung pathologischer Erregungen über so lange Zeit verhindert, ohne dabei die normale Motilität der Tiere zu stören. Die Dosen, mit denen solche Effekte erzielt wurden, sind bei den Mischungen der verschiedenen Isomeren verhältnismäßig niedrig. Doch sollte man mit therapeutischen Versuchen noch zurückhaltend sein, solange die Wirkungsweise nicht geklärt ist und noch nicht feststeht, ob die wiederholte Verabreichung ohne Schaden vertragen wird.

Herrn Dr. Junkmann (Schering AG) u. Herrn Dr. Wick (Boehringer-Ingelheim) danken wir für die Überlassung der Substanzen.

Literatur.

[1] Herken, H.: Ärztl. Wschr. **1950**, 193. — [2] Herken, H.: Klin. Wschr. **1950**, 582. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **211**, 143 (1950). — [3] Lendle, L., u. H.-H. Schneider: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 119 (1950). — [4] Herken, H.: Pharmazie **1950**, 88. — [5] McNamara u. St. Krop: J. of Pharmacol. **92**, 140 (1948). — [5a] Barke A.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. **1949**, 286. — [6] Riemschneider, R.: Kontaktinsektizide II, **1950**, 779. — [7] Behrens, B.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **140**, 237 (1929). — Kärber, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **162**, 480 (1931). — [8] Taylor: Lancet **1945**, 1320. — [9] Coper, H.: noch unveröffentlichte Versuche. — [10] Schneider, H.-H.: Diskussionsbemerkung zum Vortrag H. Herken. Pharmakologenkongreß Nauheim 1950. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**-158 (1950). — [11] Herken, H., u. J. Klempau: Naturwissenschaften **1950**, 493. — [12] Folch, I.: J. biol. Chem. **139**, 973 (1941); **146**, 35 (1942) zit. nach F. Haurowitz: Fortschr. d. Biochemie **1948**, 57. — [13] La Clair, T. B., Kauer u. Cristol: zit. nach [14]. — [14] Lutter, Koelbel, Ruschenburg u. F. Lampe: Z. f. Naturforschung **1949**, 4b, 133. — [15] Scheuing, G., u. C. Vogelbach: Naturwissenschaften **1950**, 211. — [16] Woodard, G., B. Davidow u. A. J. Lehmann: zit. nach Riemschneider, R.: Kontaktinsektizide II, 781 (1950).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 472—489 (1951).

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Heidelberg
(Direktor: Professor K. H. Bauer).

Rhodanid als Mittel zur Untersuchung extrazellulärer Räume und seine Beweglichkeit im Körper des Hundes* **.

Von
Oskar Eichler und Ilse Appel.

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. September 1950.)

Nach der Erkenntnis, daß Anionen mit wenigen Ausnahmen vorwiegend extrazellulär bleiben[1], ergab sich die Möglichkeit, durch das Ausmaß der Verdünnung eines injizierten körperfremden Anions diese Räume auch am Menschen festzustellen und zu verfolgen, was z. B. in der Eppingerschen Klinik[5] zu interessanten klinischen Resultaten führte. Im Prinzip sind zu diesem Zwecke alle unterscheidbaren Substanzen mit schwerer Permeationsfähigkeit und nicht zu rascher Ausscheidung brauchbar. So wählte man z. B. in USA neuerdings Mannitol. Aber Rhodanid wurde zeitweise deswegen bevorzugt, weil es analytisch durch die Eisenchloridreaktion relativ leicht nachweisbar ist.

In umfangreichen Untersuchungen[2] wurde bei Hunden ein Endgleichgewicht bereits nach etwa 50 min beobachtet, jedenfalls ein Gleichgewicht bis auf Reste. Diese Geschwindigkeit ist nach den Untersuchungen von Flexner u. Mitarb.[4] eigenen[6] und vor allem von Gellhorn u. Mitarb.[3] mit Radionatrium durch den raschen Austausch in den Kapillaren motiviert, wobei ein Na-Gleichgewicht langsamer eintritt, weil Na auch in die Zellen eindringen kann, so daß die Na-Räume schließlich um 50% größer sind als die von Rhodanid. Der Nachteil des Rhodanids besteht darin, daß es zum Teil im Plasma (vielleicht an die Pseudoglobulinfraktion) reversibel gebunden ist, so daß es sowohl in Ultrafiltraten, als auch in Transsudaten 20% unterhalb der Konzentration des Plasmas liegt. Für die Bestimmung der extrazellulären Räume soll dieser Mangel durch das Eindringen in manche Zellen, wie z. B. Erythrozyten, Zellen des Reticuloendothels, besonders der Leber und der Speicheldrüsen ausgeglichen werden.

Wir legten uns die Frage vor, inwieweit bei fortlaufenden Bestimmungen im Blutplasma sich in den Rhodanwerten die Veränderungen der extrazellulären Räume auch bei Eingriffen, z. B. bei Injektion von Blutersatzstoffen widerspiegeln, vor allem auch welche Verzögerung dabei eintritt. Da die Resultate gegen die Erwartung auftraten, gerade wenn man Chlorid als Vergleich heranzog, ergab sich die Untersuchung des

* Mit Unterstützung der Stiftung für Krebs- und Scharlachforschung.
** K. H. Bauer zum 60. Geburtstag gewidmet.

vergleichenden Verhaltens beider Ionen hinsichtlich der Ausscheidung. Dieses Problem wurde zwar für Bromid vielseitig bearbeitet. Seine Untersuchung für Rhodanid fehlt völlig, obwohl es unser Interesse verdient, weil SCN′ ein noch größeres Ion als Bromid darstellt und damit Material zur weiteren Prüfung des biologischen Transportes gewonnen wird.

1. Methodik.

Als Versuchstiere dienten uns 17 Hunde im Gewicht von 8,5 –30 kg. Die Tiere blieben mindestens 24 Std nüchtern, durften jedoch saufen. Sie wurden mit 0,02 g Morphin vorbehandelt und erhielten darauf i. v. Evipan-Natrium. Daß Narkotika dieses Typs auf die Kapillarpermeation keinen Einfluß haben, war bereits von Gellhorn, Merrell und Rankin[3] festgestellt worden.

Nach Einleitung der Anästhesie wurden folgende Eingriffe vorgenommen:

1. Bei einigen Versuchen wurde die Milz doppelt unterbunden oder sogar exstirpiert, um die durch Ausschüttung von Erythrozyten erfolgende Störung der Zählung zu verhindern.

2. Der Magen wurde leicht abgebunden, um mit Sicherheit reinen Magensaft zu erhalten. Zur Abbindung diente ein breites Band, damit die bei Verwendung von Zwirn oder Seide gelegentlich auftretenden Blutungen mit ihren Störungen der Analyse vermieden werden. Ein Magenschlauch diente zu fortgesetzter Ableitung des Sekretes. Eine Verunreinigung mit Speichel wurde streng verhindert.

3. 2mal wurden Darmschlingen zur Gewinnung des Darmsaftes isoliert. Das unterließen wir später wegen leichter Verletzung der Schleimhaut und Gefäße und punktierten dafür das Jejunum und Ileum an einer Stelle.

4. Bei männlichen Hunden wurde nach sectio alta ein Katheter zur fortlaufenden Gewinnung des Urins in die Blase eingelegt, bei weiblichen wurde der Katheter durch die Harnröhre eingeführt.

5. In der Leistenbeuge wurde in die Vene eine dicke Kanüle zur intravenösen Infusion, in die Art. femoralis eine Kanüle zur raschen Gewinnung des Blutes eingebunden.

6. Zu gegebenen Zeiten wurden Hautstücke zur Analyse entnommen unter sorgfältiger Blutstillung und Verschluß der entstehenden Wunde. Die meisten Entnahmen erfolgten erst am Schluß des Versuches.

Nach diesen Vorbereitungen wurde eine genau abgemessene Menge von 0,1% Geigy-Blau ($\frac{1}{3}$ mg/kg) und $33\frac{1}{3}$ mg/kg KSCN injiziert. Das Tier blieb $1\frac{1}{2}$—2 Std bis zur ersten Blutentnahme liegen. Von dieser Zeit bis zur nächsten Entnahme verstrich ein Zeitraum von 1 Std. Damit wurde der Ausgangswert und das Ausmaß des Gleichgewichtes sichergestellt, bis die Infusion erfolgte*.

Wir fanden in Wiederholung der Versuche von Gregersen u. Stewart[2], daß 30 min nach der Injektion bereits 80% oder mehr des Gleichgewichtes erreicht waren. Trotzdem dauert eine geringfügige Aufnahme von SCN noch später fort (wobei die Ausscheidung selbstverständlich in Rechnung gestellt wurde). In der Zeit von $1\frac{1}{2}$—2 Std von der ersten bis zu $2\frac{1}{2}$—3 Std der zweiten Entnahme waren die Rhodanräume kaum mehr als 1% gestiegen, häufig weniger. Bei 12 entsprechenden Versuchen hatten sie folgende Größen:

33, 39, 37, 29, 22, 36, 32, 32 33, 29, 41, 29% des Körpergewichts.

---

* Das Blut wurde mit einigen Körnchen Heparin (Vetren) versetzt, das uns von der Fa. Promonta großzügig zur Verfügung gestellt wurde.

Die Infusion bestand aus Kochsalzlösung, die entweder einmalig in begrenzter Menge zugeführt wurde oder bis zum Exitus des Tieres fortdauerte. Nur gelegentlich werden wir hier unsere Versuche mit Blutersatzkolloiden wie Periston oder Dextran heranzuziehen haben. Während des weiteren Versuchsverlaufs wurden folgende Proben der Analyse unterworfen: Blut, Urin, Magensaft, Darmsaft, verschiedene Organe.

Wir schließen noch einige notwendige Bemerkungen über die verwandten Prozeduren an:

Erythrozyten wurden in jeder Blutprobe doppelt gezählt, da wir die Verdünnung des Blutes möglichst quantitativ verfolgen wollten. Das Geigy-Blau wurde mit dem Filter S 61 im Stufo bestimmt, um so einen Eindruck über die Plasmamenge zu gewinnen. Da der Farbstoff von Periston adsorbiert wird und auch im Urin erscheint, wahrscheinlich auch im Reticuloendothel mit dem Kolloid aufgenommen wird, sind hier Korrekturen anzubringen. Aber für einige Stunden dürften die entstehenden Fehler nicht groß sein. Durch Dextran wird der Farbstoff kaum aufgenommen, da sein Erscheinen im Urin sich nur sehr selten und für kurze Dauer in der Andeutung eines grünlichen Schimmers manifestiert.

Die *Rhodanbestimmung* erfolgte in einigen Versuchen kolorimetrisch mit der $FeCl_3$-Methode. Da sich jedoch dabei die gleichzeitige Anwendung eines Farbstoffes wie Geigy-Blau verbot, gingen wir zu der Methode von Hartner[7] über, die auch von Hinsberg und Lang[8] empfohlen wird. Diese Methode bewährte sich auch bei uns, zumal wir in höheren Konzentrationen arbeiten konnten. So waren unsere Bromatlösungen $^1/_{100}$ normal. Wir konnten das Verfahren auch für die Bestimmung im Urin übernehmen. Sogar in den Geweben war es brauchbar. Die Gewebe wurden nach Wägung in eingestellter NaOH bei 37° aufgelöst. Die Menge von NaOH war stets so bemessen, daß in jeder Analyse 0,3—0,4 g Gewebe vorhanden war. Die Lauge mußte genau der Menge von $CdSO_4$ äquivalent sein, wie sie Hartner[7] für Blutplasma angibt. Wir geben die Genauigkeit unseres Verfahrens mit 2—3 γ SCN an, also geringer als in der Originalvorschrift, weil wir mit größeren Mengen und daher auch stärkeren Lösungen arbeiten konnten.

Störungen unabsehbarer Art, die wir auch heute nur bedingt überwunden haben, hatten wir bei Anwesenheit von Dextran oder Periston (Kollidon) in der Analyse. Wenn die Kolloidmengen klein waren, ergaben sich kaum Schwierigkeiten, wie folgende Analyse zeigt:

Ansatz: In 2 cc 55 γ SCN + 2 cc Plasma + 2 cc 6% Dextran verarbeitet wie üblich, ohne sichtbare Störung, gefunden 55,5 γ.

Wenn die Menge Dextran aber nur etwas überschritten wird, gibt es zahlreiche Störungen durch Hemmung der Fällung von AgCl und AgSCN. Die Niederschläge bleiben fein und sind schwer filtrierbar. Durch stets neues Durchgießen verstopft sich allmählich das Filter und das Filtrat wird klar, aber die Zeit dehnt sich auf viele Stunden aus, so daß Serienanalysen unmöglich werden. Diese Schwierigkeiten ließen sich nicht beheben durch Steigerung der $CdSO_4$-NaOH-Mengen und nur bedingt durch Zusatz größerer Mengen NaCl, wobei man auf das nicht im Filter bleibende verzichtete; jedoch ging es gut, wenn man die verwandten Plasmamengen auf 1 cm^3 beschränkte.

Eine Fällungshemmung ergab sich übrigens auch in den Organanalysen, wenn den Tieren Blutersatz-Kolloide gegeben worden waren, ein Zeichen, daß sie auch in die Gewebe übertreten. Bei nicht nüchternen Tieren war eine Bestimmung im Magensaft im Verlauf der Stärkeverdauung unmöglich.

Neben diesem wurde bestimmt Chlorid und das p_H mit der Chinhydronelektrode. Sekrete wie Magensaft und Urin fingen wir quantitativ auf.

2. Das Verhalten der Rhodanräume nach Zufuhr von Blutersatzflüssigkeiten.

Nach früheren und unseren Untersuchungen über die Geschwindigkeit des Rhodanidausgleichs bei Hunden konnte man nicht erwarten, daß man durch fortgesetzte Analysen ein wahrheitsgetreues Bild über das Verhalten der extrazellulären Räume gewinnen könnte, aber wir hatten die Hoffnung, daß bis zu einem gewissen Grade sich ein Bild des Ablaufs ergeben würde, zumal Rhodanid beim Hunde nur sehr langsam der Ausscheidung unterliegt (siehe unten), die außerdem mit Leichtigkeit der chemischen Kontrolle offen ist. Wenn man nach üblicher Art die dem Anion offenen Räume berechnet nach der Formel: $\frac{\text{im Körper befindliche Menge}}{\text{Konzentration im Plasma}}$ wird man im Augenblick einer Infusion bis zum Ausgleich ein starkes Ansteigen dieser Räume erhalten müssen, weil diese Lösung vorerst nur die im Plasma vorhandenen SCN-Mengen verdünnt. Nach Gellhorns und seiner Mitarbeiter[3] Untersuchungen kann man die Mischung der intravasalen Flüssigkeit in etwa ½ min als abgeschlossen annehmen. So müssen anfangs die Räume rein virtuell enorm zunehmen und mit dem fortschreitenden Ausgleich auf den Wert absinken, der mit der infundierten Menge, soweit sie noch nicht durch den Urin ausgeschieden wird, korrespondiert. Den ersten Vorgang konnten wir jederzeit beobachten, wenn eine Flüssigkeit in das Blut gegeben wurde, die in kurzer Zeit nicht wesentlich den Blutkreislauf verläßt, wie Dextran oder Periston, auch wenn diese Lösungen einen kolloidosmotischen Druck besitzen, der den des normalen Plasmas übertrifft. Hier findet keine Filtration in die Gewebe statt, die in der Lage wäre, gelöste Partikel auch gegen den Konzentrationsgradienten nach außen zu befördern. Bei Infusionen physiologischer NaCl-Lösung liegen die Verhältnisse dauernd anders, wie Tab. 1 lehrt:

Tabelle 1.

Versuchs-Nr.	51	52	53	73	74
Gewicht kg	30	27,5	12	8	14
infundiert l	1,5	1,5	0,5	0,5	2,0
Zeit nach Abschluß der Infusion in Minuten	61	199	120	120	151
Rhodanraumzunahme in l	4	2,75	2,75	2,77	2,21

Beim Vergleich der erhaltenen Werte der Zeilen 3 und 5 darf man nicht aus dem Auge verlieren, daß die ausgeschiedenen Flüssigkeitsmengen nicht abgerechnet wurden, z. B. waren beim Versuch 74 bereits 864 cc im Urin erschienen.

Aber die Verhältnisse liegen bei Dextran nicht prinzipiell anders. Als Beispiel geben wir Versuch 54 an mit einem Hund, der 0,5 l Dextran erhielt. Die Rhodanräume waren noch 315 min nach Ende der Infusion um 1,42 l größer. Also muß sich

über viele Stunden ein Ungleichgewicht halten, oder es müßte Orte geben, z. B. Drüsen, in denen SCN′ in höherer Konzentration ausgeschieden wird als Chlorid, wenn man das Verhältnis im Blutplasma zum Vergleich heranzieht. Ein Beispiel wäre z. B. das Verhalten der Speicheldrüse, die aber quantitativ hier nicht einspringen könnte.

3. Die Bewegung des Rhodanids nach Zufuhr von physiologischer Kochsalzlösung.

Als Beispiel unserer Resultate legen wir auf den folgenden Tabellen 3 Versuche vor. Die Werte stellen nicht die originalen dar, sondern sind aus der Plasmamenge nach Geigy-Blau, den Erythrozytenzahlen, sowie den Rhodan- und Chloridanalysen auf elementare Weise als Bilanzen erhalten worden. Als Grundlage der Berechnungen diente die Angabe von Gellhorn, daß eine Durchmischung des Kreislaufinhalts innerhalb einer halben Minute praktisch abgeschlossen ist.

a) Einmalige kleine Infusion.

Die Tab. 2 zeigt, wie im Moment der Infusion Rhodan in das Blut einströmt. Dieser Gewinn ist durch einfache Diffusion bedingt und kommt dadurch zustande, daß durch die plötzliche Blutverdünnung die höhere Konzentration sich nach dem Plasma zu auszugleichen sucht. Das Gewebe verliert an Rhodanid. Dieser Ausgleich wird nach den Ableitungen von Flexner, Cowie u. Vosburgh[4] von Diffusionskräften beherrscht. Daneben ist aber noch eine Filtration vorhanden, die nach den vorwiegenden Anschauungen allgemein zu fordern wäre; die Menge der Filtration ergibt sich aus den Flüssigkeitsmengen, die das Blut in Richtung der Gewebe verlassen. Diese müssen eine definierte Menge Rhodanid mit sich führen.

Wir sehen weiterhin, daß in der zweiten Periode das Gewebe teils Rhodanid gewinnt, teils verliert. Diese Mengen sind keineswegs einfach zu addieren, da es sich um 2 verschiedene Gewebsarten handelt, die vor allem von Gellhorn, Merrell und Rankin[3] durch die Geschwindigkeit der Beladung mit ^{24}Na unterschieden wurden. Da nach den Untersuchungen von Manery und Mitarbeitern sich die Na-Räume von den Chloridräumen nicht wesentlich unterscheiden — beim Hunde machen die Erythrozyten eine Ausnahme — würde im allgemeinen dieselbe Ordnung anzuwenden sein, d. h. in raschem Ausgleich stehen Gewebe der Gruppe A: Muskel, Lunge, Darm und Leber, während die von Gruppe B: Haut, Sehne, Knochen und Gehirn, langsamer folgen. Nun ist gerade die Haut bzw. das dazugehörige Bindegewebe der Ort, an dem sich Ödeme, auch infundierte Salzlösungen, ansammeln. Bei größeren Infusionen ist die Submucosa des Magens besonders betroffen. Bei der in diesem Versuch nur kleinen Infusion von 400 cm^3 für ein 8 kg schweres Tier werden weder Ödeme sichtbar, noch sammelt sich ein Transsudat im Peritonealraum

Tabelle 2 (nach Versuch 73).

Zeitraum Uhr	infundiert cc	Rhodanidbilanzen in mg SCN						Wasser cc			SCN-Konzentration** des Filtrats in γ	
		Blut	Urin	Gewebe				Blut	Urin	Gewebe	ist	soll
				filtr.	diffund.	Σ filtr.	Σ diffund.					
13,20—13,32	200	+ 7,9	0,018	—	— 7,92	—	— 7,92	+ 217	3,7	(— 21)	—	—
13,36	150	+ 3,5	0,019	+ 8,42	— 11,94	+ 8,42	— 19,86	— 7	1,2	+ 156	—	59,5 (54)
13,38	50	+ 1,1	0,01	+ 0,82	— 1,92	+ 9,24	— 21,78	+ 36	0,6	+ 13,0	—	63,1 (57,5)
13,42	—	— 3,5	0,02	+ 0,8	+ 2,68	+ 10,04	— 19,10	— 14	1,2	+ 13,0	268	61,6 (56,2)
13,52	—	— 14,1	0,90	+ 9,45	+ 3,75	+ 19,49	— 15,35	— 210	41	+ 169	78	56 (49,5)
14,07	—	+ 0,4	0,82	— 1,71*	+ 0,49	+ 17,78	— 14,86	— 7	37,5	— 30,5	40	56* (49,5)
14,37	—	+ 0,1	0,76	— 1,76*	+ 0,90	+ 16,02	— 13,96	— 2	33,4	— 31,4	27,4	(56)*
15,37	—	+ 1,56	0,17	— 1,78*	+ 0,05	+ 14,24	— 13,91	+ 25	6,8	— 31,8	54,3	(56)*
15,57	—	— 0,39	0,06	+ 0,21*	— 0,12	+ 14,45	— 14,03	— 6	2,27	+ 3,7	89,2	(56)*

* Beim Einstrom sind die zuletzt filtrierten Lösungen gerechnet.

** Konzentration gerechnet nach Plasmagehalt, ohne Berücksichtigung des DONNAN-Faktors, aber auch ohne Berechnung des gebundenen Anteils. Die dann filtrierende Konzentration ist in Klammern gesetzt. Man sieht, daß keine wesentliche Veränderung eintritt, weil das Plasma verdünnt ist. Die Differenz würde noch geringer werden, wenn der DONNAN-Faktor eingesetzt würde.

Die positiven und negativen Vorzeichen bedeuten Gewinn und Verlust des betreffenden Gewebsteils.

Tabelle 3 (nach Versuch 74).

Zeitraum Uhr	infundiert	Rhodanidbilanzen in mg SCN: Flüssigkeit: Blut	Urin	Gewebe: filtr.	Gewebe: diffund.	Gewebe: Σ filtr.	Σ diffund.	Flüssigkeit: Blut	Urin	Gewebe	SCN-Konzentration des Filtrats in γ: ist	soll
14,06—14,26	—*	9,4	3,14	+ 8,85	— 2,59	+ 8,85	— 2,59	— 261	95	+ 166	37,7	53,3
—14,45		1,5	3,00	4,5	—	+ 4,35		+ 2	91	93	48,4	
15,03	500	4,4	3,99	+ 13,56	— 13,15	+ 17,91	— 15,74	+ 92	141	+ 267	1,53	50,8
15,25	500	+ 12,5	6,84	— 8,03	— 11,31	+ 9,88	— 27,05	+ 409	249	— 158	122,6	50,8
—15,55		— 9,3	5,18	+ 5,26	— 1,14	+ 15,14	— 28,19	— 312	186	+ 126	32,7	41,7
—16,55		— 0,7	1,83	1,58	+ 0,45	+ 13,56	— 27,74	— 13	51	— 38	29,8	41,7
17,55	—	— 1,8	1,83	+ 2,70	2,73	+ 16,26	— 30,47	— 110	51	+ 59	—	45,6

* Die Tabelle beginnt, nachdem die ersten 500 cc infundiert wurden. Von 13,10—13,28 Uhr waren die ersten 500 cc 0,9% NaCl verabfolgt worden (Hund 14 kg ♂). Sonstige Erläuterungen siehe Tab. 2.

wie bei Dauerinfusionen. Wir sehen also aus der Tabelle, wie Rhodan Gewebe der Gruppe A durch Diffusion verläßt und durch den Filtrationsstrom in andere Gewebe eingelagert wird. Auch für die Gewebe der Gruppe B gibt es durch Rückfiltration Phasen des Rhodanidverlustes, wobei bei relativ geringem Verlust über den Urin die anderen Gewebe sogar einen Diffusionsgewinn haben können.

Die eben hier vorgelegte Darstellung gilt nur in abstrahierter Form. Denn wählt man die Zahlen, die Gellhorn für seine Räume A angibt und rechnet aus dem Abfall der Plasmakonzentration deren Verlust aus, dann wird dieser nicht gedeckt, d. h. auch die anderen Gewebe beteiligen sich an dem Umschlag. Aber es ergibt sich auf jeden Fall eine Umlagerung der Rhodanidmengen, wobei vor allem das Blutplasma verliert. Rechnet man jetzt aus den Plasmakonzentrationen die lösenden Räume aus, dann erhält man unmögliche Zahlen. So könnte dann das Resultat auftreten, daß schließlich alle Zellen für Rhodanid zugänglich sind. Solche Resultate können gewonnen werden, wenn aus irgendwelchen hämodynamischen Gründen Flüssigkeitsverschiebungen vom Gewebe ins Blut und umgekehrt stattfinden, wie es im Wechselspiel der Bedingungen auch aus unserer Tabelle hervorgeht.

b) Wiederholte Infusionen

(Tabelle 3).

Auch bei diesem Versuch war der Inhalt der Bauchhöhle zu vernachlässigen. Wir sehen, wie durch fortgesetzte erzwungene Filtration immer neue Mengen

von Rhodanid in die entsprechenden Gewebe verschwinden. Diese Verluste durch Filtration und Urin werden durch die des Blutes und der im Diffusionsgleichgewicht stehenden Gewebe gedeckt. Dadurch wird es verständlich, daß am Schluß des Versuchs die „Rhodanräume" um 2200 cm³ zugenommen haben, während die Menge der im Körper befindlichen Flüssigkeit noch nicht einmal die Hälfte beträgt.

Das Resultat des Zeitraums bis 15^{25} wäre nicht verständlich, nämlich daß trotz Infusion das Gewebe an Flüssigkeit verloren hat, wenn man nicht hinzufügte, daß die Infusion nur die zweite Hälfte des Intervalls einnahm. Der Flüssigkeitsverlust fand aber während der Zeit der Ausschwemmung der gerade abgeschlossenen Infusion statt.

Tabelle 4 (*nach Versuch 84*).

itraum Uhr	Infund. cc	Rhodanid (mg SCN)							
		Blut	Urin	Darm	Magen	Gewebe			
						filtriert	diff.	Σ filtriert	Σ diffund.
5—13,50	770	+ 7,1	2,75	—	0,46	+ 17,38	— 27,69	+ 17,4	— 27,4
—15,00	1822	— 4,4	10,38	—	0,52	+ 47,2	— 53,70	+ 64,6	— 81,4
—16,00	1519	— 10,8	7,03	4,39	—	+ 11,30	— 11,12	+ 75,9	— 92,5
—17,00	1764	— 6,3	5,61	4,39	0,23	+ 14,43	— 18,36	+ 90,3	— 110,9
—18,00	1680	— 6,3	4,64	6,04	1,38	+ 12,78	— 18,54	+ 103,1	— 129,4
—18,30	695	— 1,2	0,44	3,17	2,08	— 4,49	—	+ 98,6	—

	Flüssigkeit				Chlorid in g Cl						
t	Urin	Magen-saft	Darm	Gewebe	Zufuhr g	Blut	Urin	Magen-saft	Darm-saft	Gewebe filtr.	Gewebe diff.
60	133	7	—	+ 270	4,20	+ 1,83	0,37	0,04	—	+ 1,10	+ 0,86
	760	8	—	+1062	9,94	+ 0,31	2,46	0,04	—	+ 5,24	+ 1,89
77	685	—	196	+ 361	8,27	+ 1,66	2,64	—	1,09	+ 1,93	+ 0,95
03	700	5	196	+ 660	9,62	+ 1,16	2,94	0,03	1,09	+ 3,64	+ 0,76
90	690	37	321	+ 822	9,15	— 1,03	3,11	0,20	1,81	+ 4,50	+ 1,56
80	70	115	237	— 307	3,79	+ 3,36	0,35	0,64	1,34	— 1,69	— 0,21

c) Einmalige, bis zum Tode des Tieres fortgesetzte Infusion (Tabelle 4).

Im Gegensatz zu den beiden vorherigen Versuchen sammelte sich im Peritonealraum eine gewisse Menge Flüssigkeit an. Ebenso war Flüssigkeit aus Darm und Magen zu erhalten. Während der Mageninhalt fortgesetzt durch einen Schlauch abgeleitet wurde, entleerte sich der Darm spontan. Wiederholte Kontrollen zeigten, daß eine Ansammlung von Flüssigkeit nicht stattfand. Diese Reaktion ist bei keinem anderen Versuch eingetreten, so daß wir nirgends die Bilanzen so vielseitig verfolgen konnten.

Nach den Berechnungen von GELLHORN sind von den Na-Mengen 24,7 % im Plasma und 21,9 % in den Räumen A lokalisiert, die in raschem Diffusionsausgleich mit dem Plasma stehen. Die SCN-Räume in diesem Versuch betragen 2,36 l. Bei Annahme etwa gleicher Verteilung würden wir 582 cc im Plasma, 516 cc in den extravasalen Räumen A anzusetzen

haben. Da nach den speziellen Messungen mit Geigy-Blau zur ersten Gruppe nur 350 cc gehören, seien die restlichen den Räumen A addiert, die damit einen Umfang von 748 cc erhalten. Unter Annahme eines Gleichgewichtes mit dem Plasma würden wir am Anfang der Infusion dort 56,8 mg vorfinden, am Ende nur 6,65 mit einem Verlust von 50,15 mg. Der tatsächliche Verlust beträgt aber 129,41 mg, so daß 79,26 mg SCN aus Raum B stammen müssen. Wenn wir nach Gellhorn annehmen, daß dieser Raum sich mit ein fünftel Geschwindigkeit an dem Umsatz beteiligt, kommen wir erst zur Deckung weiterer 17 mg. Also müssen auch die Räume B sich weitgehend an dem Umsatz beteiligen, so daß ein Teil des Diffundierten durch Filtration gewonnen wird und so SCN die Kapillargrenze in jeder Richtung durchsetzt. Da eine Filtration in die Gewebe dauernd stattfindet und eine Diffusion gegen diesen Strom unmöglich ist — denn sie würden in Gellhorns Rechnung auftreten müssen —, wird man zur Annahme einer Kapillaroberfläche gezwungen, die für die Diffusion offensteht.

Besser ist es aber und ungezwungener, entsprechend der alten Vorstellung eine Rückfiltration einzusetzen (die kolloidosmotisch bedingt sein kann), die höhere Konzentrationen zurückbringt, als filtriert wurden. Also kann dann außerhalb der Kapillargrenzen der Diffusionsausgleich noch nicht eingetreten sein, wie wir es bei Auswertung unserer ^{24}Na-Versuche[6] schon postulierten. Die Gelegenheit dazu ist vorhanden, da die Konzentrationen im Plasma monoton fallen. Der Flüssigkeitsgewinn der Gewebe ist dann die Differenz zwischen der tatsächlichen Filtration und dem Rückgewinn. Wir sind noch nicht soweit, diese Fraktion abzuschätzen. Das ist aber im Prinzip möglich. Vorerst seien diese Zahlen nur zur Charakteristik der Verhältnisse angeführt.

Während der Infusion nimmt die Cl-Konzentration im Plasma stets zu. Der Abstrom einer entsprechenden Lösung in das Gewebe reicht nicht aus, um den tatsächlichen Verlust zu decken. Auch in diesem Falle ist eine Diffusion zusätzlich nachweisbar. Eine analoge Rechnung wie oben ergibt, daß die Räume A (unter Berückischtigung des Donnan-Faktors) nicht ausreichen, um die Differenz zu decken. Dabei ist allerdings der Donnan-Faktor mit nur 1,02 angesetzt, entsprechend der Filtration durch die Kapillarwände. Da aber anscheinend in den Geweben — besonders für die Sehnen ließ sich das eindeutig dartun — auch eine Bindung erfolgt, liegt darin der erste Fehler der Rechnung, der die Differenz verkleinern kann. Als zweiter Faktor ist noch die bei NaCl-Gabe (nach Behrens sowie Hudoffsky, Malorny und Netter) erfolgende Säuerung geeignet, die Aufnahmefähigkeit der Gewebe für Cl′ zu erhöhen, wenn auch kein Eiweißkörper mit geeignetem isoelektrischen Punkt — wie Hämoglobin in den Erythrozyten — im Bindegewebe gefunden wurde.

4. Die Rhodanidausscheidung durch die Nieren.

Die normale Ausscheidung von Rhodanid beim Hunde ist wie beim Menschen außerordentlich gering. In Versuch 73 beträgt sie in 4 Std nur 2,64 mg, d. h. 1,66% der Gabe. Dabei betrug die Ausscheidung in den 140 min der Vorperiode nur 0,086 mg. Denkt man sich diese Geschwindigkeit während der ganzen Zeit fortgesetzt, dann ist ersichtlich, welche Bedeutung die kleine Kochsalzinfusion auf das Endresultat hatte.

Bei fortgesetzter Zufuhr von NaCl-Lösung stieg diese Menge im Versuch 75 auf 85,46 mg, d. h. 35,6% in 8 Std mit 3,9 l Urin, im Versuch 84 auf 31,6 mg, d. h. 17,6% in 8½ Std mit 3,0 l Urin.

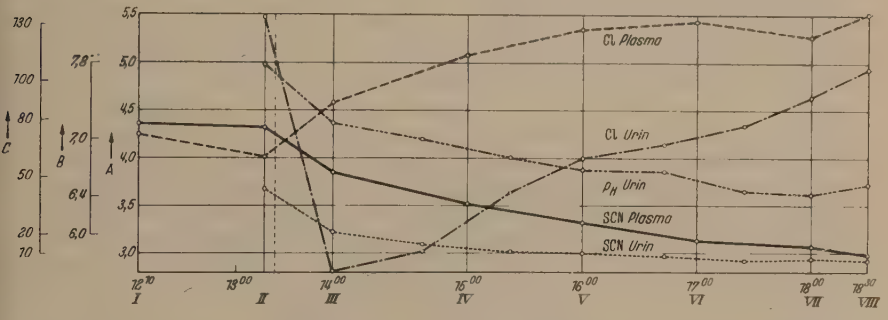


Abb. 1. (Nach Versuch 84): Abscisse: Zeit: gestrichelte senkrechte Linie: Beginn der Infusion. Durchgezogene Linien: Zeiten der Blutentnahme. ○ — — ○ mg Cl/cc Plasma, ○ — · — · — ○ mg Cl/cc Urin, ●——● γ SCN/cc Plasma, ○ ····· ○ γ SCN/cc Urin. Ordinate: Maßstab A mg Cl/cc Plasma und Urin, Maßstab B pH des Urins, Maßstab C γ SCN/cc Plasma und Urin.

Den Anteil, den die extrarenalen Faktoren dabei hatten, wie die erzwungene Diffusion, können wir aus unseren obigen Tab. 2—4 ablesen. Hier interessiert uns das Gesetzmäßige der Ausscheidung, vor allem die Beziehungen zu Chlorid. Diese sind am leichtesten herauszustellen durch die Vergleiche der Konzentrationen im Plasma und Urin.

Auf der *Abb. 1* geben wir die Konzentrationen von Cl′ und SCN′ im Plasma und Harn bei Versuch 84 als Beispiel einer großen Zahl wieder. Anfangs besitzt der Urin eine hohe Konzentration von Cl′, die die des Plasmas übertrifft. Mit Beginn der Infusion wird zuerst Wasser überschießend ausgeschieden. Chlorid wird retiniert, wobei nicht nur durch das Hungern entleerte Speicher sich füllen, etwa in der Haut und dem Bindegewebe, sondern die Konzentration im Plasma sofort ansteigt. Verzögert steigt die Konzentration im Harn an, ohne aber in über 5 Std der Infusion der des Plasmas gleichzukommen. Dieses Verhalten unterscheidet sich von dem des Kaninchens in den Versuchen von Senga (siehe [1]). Ebenso liegt die Konzentration von Rhodanid im Urin stets

unter der des Plasmas. Aber einen Vergleich erhebt man erst, wenn man die Quotienten

$$\frac{\gamma\ \mathrm{SCN'/cc}}{\mathrm{mg\ Cl'/cc}}$$

in beiden Flüssigkeiten nebeneinander betrachtet. Wir geben auf Tab. 5 eine Übersicht über weitere Experimente mit Infusion von NaCl.

Diese Beispiele vermögen uns einen allgemeinen Eindruck zu geben, wie das Verhalten selbst über eine große Konzentrationsspanne im Plasma größer bleibt als im Urin. Wenn wir die Ursache darin sehen, daß das eine Ion mehr rückresorbiert wird als das andere, bedeutet das, daß die Fähigkeit zur Rückresorption für Cl′ schlechter ist als für SCN′.

Tabelle 5. *Größe des Quotienten* $\frac{\gamma\ \mathrm{SCN/cc}}{\mathrm{mg\ Cl/cc}}$ *in Plasma und Urin (Intervalle 30-60 min).*

			Versuch 75				
Plasma	11,5	9,35	6,36	4,80	1,82	2,08	
Urin	5,17	4,47	3,21	2,57	1,39	1,15	
			Versuch 78				
Plasma	11,80	11,90	7,75	5,05	4,40		
Urin	9,23	5,77	4,40	3,69	2,44		
			Versuch 88				
Plasma	12,8	7,2	5,5	4,6			
Urin	2,56	4,5	3,16	2,74			
Verhältnis	5,0	1,60	1,75	1,68			
			Versuch 84				
Plasma	19,4	11,5	6,97	4,94	3,2	2,6	1,59
Urin	8,13	7,43	2,98	2,5	1,8	1,52	1,28
Verhältnis	2,39	1,55	2,34	1,98	1,84	1,71	1,24

Darin findet sich ein dem Bromid analoges Verhalten. Die Analogie geht insofern noch weiter, als z. B. das Kaninchen Br′ nicht besser rückresorbiert als Cl′ und zugleich SCN′ viel rascher zur Ausscheidung bringt als der Hund, als Beispiel für eine Systematik im Bau der betreffenden Zellen der gewundenen Harnkanälchen. Man sieht vor allem die Bedingungen dafür, daß NaCl auch die Ausscheidung von Rhodanid erzwingt. Das kann für die Therapie einer Intoxikation von Bedeutung sein, wie sie nicht ganz selten beobachtet wird[1].

Erste Grenze. Dieses hier dargelegte Verhalten kann aber schon deswegen nicht streng gesetzmäßig und allgemeingültig sein, auch wenn seine Spannweite ziemlich groß ist, weil Cl′ eine Schwellensubstanz ist, unseres Wissens Rhodanid aber nicht. Das ist die erste Grenze, an der Ausnahmen in Erscheinung treten müssen. Wir wollen 2 verschiedene Bedingungen dafür vorlegen.

1. Tragende Hündin (Versuch 78). Die Chloridausscheidung beträgt nur 0,7 mg Cl im Urin. Der Quotient ist im Plasma 15,3, im Urin 53. Das Verhältnis dieser beiden Quotienten ist mit 0,29 beträchtlich kleiner als 1, während es oben stets etwa

2 beträgt. Nach Beginn der NaCl-Infusion wird die vorherige Regel wiederhergestellt wie Tab. 5 lehrt.

2. Nach Zufuhr von Dextran oder Periston kommt die Niere in einen Zustand, bei dem die Schwelle erhöht wird. Der Quotient übertrifft dann beim Urin den des Plasmas bedeutend.

Beispiel (Versuch 77). Tier erhält Dextran. Vor der Infusion ist das Verhältnis beider Quotienten 1,45, nachher durchläuft es die Werte 2,06, 1,88, 1,16, 0,22, 0,17. Dieses Thema werden wir noch gesondert behandeln.

Zweite Grenze. Steigt die Konzentration im Plasma stark über die Norm an, dann wird die zuerst dargelegte Gesetzmäßigkeit durchbrochen. Wir sehen schon bei Versuch 84 einen Hinweis, wenn wir den Verlauf des Quotientenverhältnisses der Tab. 5 mit den Konzentrationen im Plasma auf Abb. 1 vergleichen. Wir sehen mit steigender Cl'-Konzentration eine Annäherung des Verhältnisses an 1. Dieses ließ sich experimentell leichter durch Infusion einer hohen Konzentration darstellen, wie folgender Versuch zeigt.

Versuch 81. Hund 9 kg. Vor Beginn der Infusion 4,13 und 4,06 mg Cl/cc im Plasma und der Quotient 12,9 und 12,6, im Urin 6,3. Das Verhältnis beider Quotienten beträgt rund 2,0. 13^{30} Beginn der Infusion einer 3,35%igen NaCl-Lösung. Die Plasmakonzentration steigt in 30 min auf 6,75, in 75 min auf 8,08 mg Cl/cc. Der Quotient ist von 12,6 über 4,90 auf 1,96 gefallen. Im Urin steigt die Cl-Konzentration von 1,5 über 5,4 auf 7,5 mg Cl/cc. Der Quotient fiel von 6,30 der Norm über 4,98 auf 3,46, das Verhältnis von 2 in der Norm über 0,98 auf 0,57.

Die beiden Grenzen stellen 2 verschiedene Situationen dar, bei denen nur die letzte einer physikochemischen Vorstellung zugänglich ist (siehe eine frühere Darstellung[9]). Durch die im Primärharn vorhandene hohe Cl-Konzentration wird die Wahrscheinlichkeit verringert, daß auch das stärker oberflächenaktive SCN die Resorptionspunkte der Zelloberfläche erreicht. Die erste Grenze würde sich dann einordnen, wenn SCN bei der Analogie der Rückresorption beider Ionen schließlich auch eine Schwellensubstanz wäre. Dieser Bereich liegt aber nicht bei unseren außerordentlich erhöhten Plasmakonzentrationen vor. Das Problem ist schwer zu lösen, höchstens über eine Extrapolation in Verbindung mit Chlorid. In unseren Versuchen und dem Hinweis auf 2 Grenzen ist der Weg schon angedeutet.

5. Die Rhodanausscheidung durch den Magen.

In den Experimenten von Davenport[10] wurde der Befund erhoben, daß Rhodanid die HCl-Sekretion zu hemmen vermag. Bei unseren Messungen ergab sich stets auch eine Abnahme der mit der Chinhydronelektrode gemessenen Werte. Allerdings war die Konzentration des Magensaftes an SCN gelegentlich schon hoch, während die Wasserstoffionenkonzentration noch kaum abgenommen hatte, so daß die Dauer der Einwirkung des Rhodanids nicht ohne Bedeutung ist. Allerdings mischte sich bei den anderen Versuchen die Infusion von NaCl störend ein.

In Versuch 81 war das p_H vor Beginn des Versuches 1,83, 110 min nach Gabe von SCN 5,09, bei einem Gehalt von 70,6 γ SCN/cc. Bei Versuch 84 war das p_H mit 65,4 γ SCN 1,73 und 4 Std nach Infusionsbeginn mit 46,9 γ SCN noch immer 1,82, um dann allerdings bei sinkendem SCN-Gehalt innerhalb der folgenden Stunde über 5,97 und 6,69 schließlich 6,98 zu erreichen. Bei dem Versuch mit der 3,35%igen NaCl-Lösung beobachteten wir einen Wert von 7,45.

Uns liegt aber hier wiederum — wie beim Urin — vor allem an der Ausscheidung im Verhältnis zu Chlorid. Deshalb vergleichen wir die Verhältnisse $\frac{\gamma \text{ SCN/cc}}{\text{mg Cl/cc}}$ im Plasma und Magensaft. Da wir den Magensaft mit einer gewissen Verspätung erhalten, die Werte im Plasma aber auf einen bestimmten Punkt fixiert und im allgemeinen fallend sind, wird die Konzentration im Magensaft im Durchschnitt die Zeiten vorher darstellen.

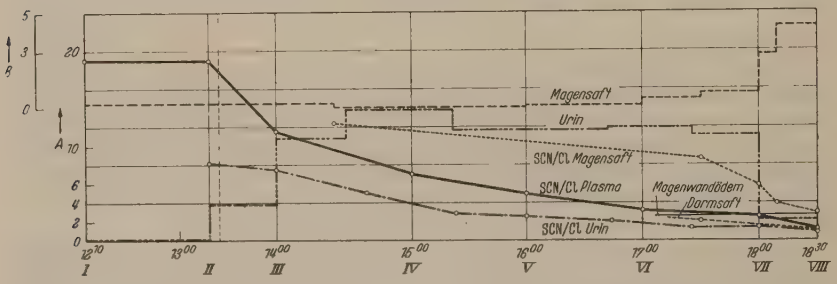


Abb. 2. (Nach Versuch 84.) Abscisse: Zeit. Gestrichelte senkrechte Linie: Beginn der Infusion. Durchgezogene Linien: Zeiten der Blutentnahme. $\frac{\gamma \text{ SCN'/cc}}{\text{mg Cl'/cc}}$: für Plasma ○———○, für Urin ·—·—·—· für Magensaft ⊙·····⊙, für Darmsaft ○———○, cc Urin/Minute —···—···—, cc Magensaft/Minute — — — —. Die Entstehung des Magenwandödems ist in die Zeit von etwa 17,00—17,30 Uhr zu legen. Der Quotient $\frac{\text{SCN}}{\text{Cl}}$ ist durch einen Strich markiert. Er liegt unterhalb des Wertes für Plasma, oberhalb des für Urin. Ordinate Maßstab A $\frac{\gamma \text{ SCN'}}{\text{mg Cl'}}$ in Plasma, Urin, Magensaft, Darmsaft und Magenwandödem oder cc Urin/Minuten, Maßstab B cc Magensaft/Minuten.

Wir stellen auf *Abb. 2* die Verhältnisse wiederum nach Versuch 84 dar, obwohl wir 3 weitere Versuche besitzen, die in keinem Punkte von diesem Verlauf abweichen.

Auf der Abbildung sehen wir, daß die Kurve für das Verhältnis $\frac{\text{SCN}}{\text{Cl}}$ für den Magensaft stets oberhalb, für den Urin stets unterhalb der des Plasmas verläuft.

Während man für den ersten Punkt der Kurve noch zweifelhaft sein könnte, ob hier nicht die Folge der vorher durchlaufenen Konzentrationen vorliegen könnte, ist dieser Einwand nicht mehr denkbar bei den späteren Werten, wie schon ein Blick auf den Verlauf lehrt. Die Sektion ergab zudem, wie weitgehend quantitativ die Ableitung durch den Magenschlauch erfolgte. Gelegentlich wurde dies auch zwischendurch durch Absaugen mit der Spritze kontrolliert.

Wir können also aus diesen Versuchen schließen, daß genau so wie in der Niere die Fähigkeit der Zellen zum Transport für SCN′ größer ist als für Cl′, das gleiche für die Magendrüsen gilt. Dies wird hier sogar uneingeschränkte Geltung besitzen, da die Magensekretion von einer Schwelle nicht betroffen wird. Es handelt sich also dabei um einen aktiven Transport, nicht nur der Wasserstoffionen, sondern auch des Chlorids, und wie man hier sieht, des Rhodanids. Auch darin gleicht das Verhalten dieses Ions dem des Bromids.

Auf der Abb. 2 sehen wir noch auf besonderen Kurvenzügen, daß die Geschwindigkeit der Magensaftproduktion dann zunimmt, wenn die der Niere abnimmt.

6. Das Magenwandödem.

Bei länger dauernden Infusionen von Kochsalzlösung — das gilt im übrigen auch für unseren Versuch mit 3,35% NaCl — bevor noch an irgendeiner Stelle des Organismus sichtbare Ödeme auftreten, wird die Magenwand stark mit Flüssigkeit durchtränkt. Die Schleimhaut hebt sich blasig ab. Die entstehenden Bilder sind photographisch und histologisch von SCHWAIGER[11] verfolgt worden. Sie entwickeln sich stets, bevor es zur Vermehrung des Magensaftes kommt. Aber ein Zusammenhang besteht nicht, wie unsere Analysen beweisen.

Präpariert man diese Schleimhaut mit der Submucosa heraus, dann preßt sich sehr rasch eine dünne, bei 3,35% NaCl etwas mehr fadenziehende Lösung ab. Diese haben wir auf SCN′ und Cl′ analysiert und fanden das Verhältnis stets etwas unterhalb des Plasmas liegend, also ein deutlicher Unterschied von dem Verhalten des Magensaftes. Man könnte es für ein Ultrafiltrat des Plasmas halten, wenn man berücksichtigt, daß ein Teil des SCN nicht filtrierbar ist. Auf Abb. 2 haben wir die Lage dieses Verhältnisses angedeutet. Es liegt, wie auch in den anderen 4 Versuchen (Tab. 6) oberhalb vom Urin, bei dem ein aktiver Prozeß eingreift und unterhalb von dem des Plasmas.

Tabelle 6. *Verhältnis* $\frac{\gamma \text{ SCN}}{\text{mg Cl}}$.

Versuch	78	81	83	75
Plasma	5,05	3,00	4,60	2,54
Magenwandödem . . .	4,91	2,42	4,17	2,52

An diesem Beispiel zeigt sich, wie das Eintreten in die Gewebe durchaus den zu erwartenden Vorgängen der Filtration entspricht.

7. Die Darmflüssigkeit.

Wenn auch bei einer sich in Grenzen haltenden NaCl-Infusion eine Vermehrung des Darminhaltes nicht zur Beobachtung kam — selbst

nicht in solchen Versuchen wie dem Versuch 73 von Tab. 2, bei dem ein 8 kg schwerer Hund 2000 cc 0,9% NaCl erhielt —, war das Sekret bei Dauerinfusionen sehr stark. Eine Vermischung mit Mageninhalt wurde vermieden durch Abbinden des Pylorus. Uns interessierte die Art des Übertritts der Anionen. Die quantitative Bedeutung ist auf Tab. 4 dargestellt. Hier ist nun das Verhältnis $\frac{SCN}{Cl}$ im Vergleich zum Plasma zu erwähnen. Der Vergleich ist hinsichtlich der zeitlichen Kongruenz schwerer abzuschätzen als beim Magen. Wir geben deshalb für das Plasma auf Tab. 7 nur die Intervalle an, die wirksam gewesen sein könnten.

Tabelle 7. *Verhältnis* $\frac{\gamma\ SCN}{mg\ Cl}$ *von Darmflüssigkeit und Plasma.*

Versuch	75		78		81		84
Plasma	1,82	2,08	7,75—5,05		1,96—4,90		siehe Abb. 2
Darm	1,26	1,59	6,40	5,68	2,18	2,22	

Die Konzentration ist geringer als im Plasma analog dem Ödem der Magenwand.

8. Der Rhodanidgehalt in einigen Geweben.

Bei Analysen der Nebennieren von Kaninchen[12] fand sich eine erhöhte Aufnahme von Rhodanid. Ebenso wurde in der Schilddrüse von Ratten[13] ein erhöhter Gehalt nachgewiesen. Diese Befunde wurden erweitert und gefestigt durch Markierung des verabfolgten Rhodanids mittels ^{35}S in den Versuchen von Wood und Williams[14]. Ein Bruchteil des SCN im Plasma erwies sich als mit Eiweiß fällbar, also „gebunden". Dieser Anteil wird durch unsere Methoden der Enteiweißung wohl nicht mitgefällt, während er durch Trichloressigsäure gefällt wird. Größere Bedeutung erlangt dieser Anteil in Nebenniere und Schilddrüse. Wir haben deshalb eine Reihe von Analysen dieser Organe ausgeführt, auch zur Prüfung inwieweit sich die Resultate obiger Autoren beim Hund wiederfinden. Auch hier haben wir stets den Vergleich mit dem Chlorid des betreffenden Organs angestellt.

Tabelle 8. *Verhältnis* $\frac{\gamma\ SCN}{mg\ Cl}$ *Gewebe.*

Schilddrüse	18,86	2,92	22,6	4,28	5,95
Plasma	10,78—14,26	4,4—5,1	18,4	1,96—4,90	4,60
Nebenniere	27,4		10,9		5,52

Aus diesen Analysen ist ersichtlich, daß eine spezielle Speicherung in keinem der in Frage stehenden Organe nachweisbar war.

Uns mußten aber in erster Linie die quantitativen Hauptspeicher für Halogene interessieren, um die eingangs erwähnte Fragestellung einer Antwort näher zu bringen. Wir haben deshalb schon 2 Std nach der Injektion des Rhodanids, also vor Beginn der Infusion, Hautstücke zur Analyse entnommen und sie mit später gewonnenen verglichen.

Aus Tab. 9 ist ersichtlich, daß in einigen Versuchen schon am Anfang das SCN in größerer Menge vorhanden ist, als es der Proportion des Plasmas entspricht, daß aber mit der Infusion der Unterschied größer wird. Auch für die Versuche mit Dextran und Periston, die in hypertonischer Konzentration verabreicht wurden, gilt dies, wo also nicht ein Strom hinein, sondern vorwiegend heraus stattfindet. Wir müssen aus diesen Befunden darauf schließen, daß Rhodanid auch im Bindegewebe gebunden vorliegt und jedenfalls weniger beweglich ist als das Cl′, obwohl es auch schon im Plasma nicht völlig frei und ultrafiltrabel ist. Die Verhältnisse sind um so eindeutiger zu werten, als während der Infusion der Chloridgehalt im Plasma steigt und Chlorid durch Diffusion, wie wir in den Bilanzen des dritten Abschnittes sahen, die Gewebe auch des Typs B nach Gellhorn (wozu Haut und Bindegewebe zählen) aufsucht. Das bedeutet eine festere Bindung des Rhodanids, woran das Fettgewebe nicht teilnimmt. Die Bindung wird also nicht durch Anlagerung an ungesättigte Fettsäuren oder lipoide Substanzen, wie man es dachte, geschehen.

Tabelle 9. *Quotient* $\frac{\gamma\ \text{SCN}/g}{\text{mg Cl}/g}$ *Gewebe. In Klammern der zugehörige Quotient für Plasma.*

Versuchs-Nr.	75	76	77	78	80	81	83	84	
Haut anfangs	—	19,66 (16,0)	—	12,5 (15,3)	18,1 (22,0)	—	20,2 (13,3)	—	
Subkutis Ende	6,6 (2,0)	—	—	10,5 (5,0)	15,4 (18,6)	—	—	—	
Haut Ende	—	18,86 (15,2)	18,4 (14,3)	—	—	—	6,55 (4,6)	4,95	(1,59
Fettgewebe Ende	—	—	—	—	—	1 (1,96)	—	2,00	–2,96)
Sehne Ende	—	—	—	—	—	8,9 (1,96)	7,2 (4,6)	3,92	

Peristonversuche: 76, 80, Dextranversuche: 77, NaCl: 75, 78 (gravide) 81 (3,35% NaCl) 83, 84

9. Zusätzliche Bemerkungen.

Wenn nach Infusion von Blutersatzflüssigkeiten die dem Rhodanid zugänglichen und für extrazellulär gehaltenen Räume über jedes Maß und anscheinend irreversibel zunehmen, dann kann das nur dadurch einem Verständnis nähergebracht werden, wenn wir nachwiesen, daß Rhodanid an irgendeiner Stelle in höherem Konzentrationsverhältnis zu Chlorid, als es im Plasma vorliegt, gelangt. Gelangt es in gleichem Konzentrationsverhältnis irgendwohin, dann würde das nur einer Ausweitung der extrazellulären Räume, entsprechend der Infusion bedeuten. Also kann die Ansammlung von Flüssigkeit im Darm oder die Ausscheidung im Urin, oder das Eindringen in Ödeme wie die der Magenwand für die erhaltenen Resultate nicht verantwortlich gemacht werden. Die höhere Konzentration von Magensaft ist quantitativ zu unbedeutend.

Dagegen kommen in erster Linie Haut und Bindegewebe, später auch umfangreiche Transsudate in Frage. Wenn wir am Anfang noch ein Gleichgewicht haben, wird dieses durch die Infusion in ein Ungleichgewicht verwandelt, das sich schwerer ausgleicht, als das Gleichgewicht sich bildet. Dafür bestehen 2 Möglichkeiten.

1. Durch die Bindung von Rhodanid an Elemente des Bindegewebes wird es schwerer beweglich. Diese Bindung kann durch den Eingriff verstärkt werden, z. B. durch die Azidose, die man nach Behrens nach NaCl erwarten muß.

Sie kann auch durch die Filtration beschleunigt werden. Jedenfalls liegt hier ein Beispiel vor, wie manche Substanzen in bestimmte Richtung gezwungen werden können. Verfahren dieser Art muß man entwickeln, wenn man Medikamente, wie auch radioaktive Isotope, an die Stelle der Wirkung z. B. in Krebsgewebe bringen will.

2. Durch den Einstrom von Flüssigkeit in die Gewebe wird der durch Diffusion erfolgende Ausgleich gehemmt. Dann haben wir als Konzentration den Durchschnitt aller einströmenden Flüssigkeiten anzunehmen, der höher liegen muß als die zuletzt bestimmte Konzentration im Blut. Daß diese Verhältnisse zu erwarten sind, haben wir bei einer Reihe von Analysen der Bauchtranssudate feststellen können; wie gering die Wirksamkeit ist, konnten wir an den Analysen des Magenwandödems zeigen.

Nach Abwägung aller Möglichkeiten halten wir die Bindung an Bindegewebselemente für den Hauptfaktor. Das kann aber die klinischen Resultate fälschen, so daß man schließlich Rhodanid in der Klinik eher zur Prüfung der Funktion des Bindegewebes als der Permeabilität der Zellen brauchen könnte. Jedenfalls sind die mit Rhodan gemessenen extrazellulären Räume als virtuell zu werten.

Zusammenfassung.

Es wird über die Bewegung von Rhodanid im Versuch am Hunde nach Zufuhr von Blutersatzflüssigkeiten berichtet. Nach deren Zufuhr, besonders von Kochsalzlösung, wachsen die Räume über jede Erwartung, sie sind nur als virtuell zu werten.

Die Ursachen dieser Verhältnisse werden untersucht und Bilanzen aufgestellt. Ein Teil der Umsetzung des Rhodanids erfolgt durch Filtration, ein Teil durch Diffusion. In der Filtration liegt ein Grund des Ungleichgewichtes vor, der wesentlich in der Bindung von Rhodanid an das Bindegewebe, die noch durch die Infusion zunehmen kann, zu suchen ist.

Die Ausscheidung von Rhodanid durch die Nieren erfolgt weniger wirksam als von Chlorid. Das ist bedingt durch die bessere Fähigkeit der rückresorbierenden Zellen, das SCN zu transportieren. Das zeigt sich auch an den Magendrüsen. In der Niere ist diese Gesetzmäßigkeit aufgehoben durch Näherung an die Nierenschwelle für Chlorid und bei stärkerem Überschuß von Chlorid im Blutplasma und damit im Primärharn.

Die Rhodanidausscheidung kann ähnlich wie die von Bromid durch Chlorid erzwungen werden. Der Mechanismus dieses Vorgangs wird analysiert.

Im Darm finden wir eine schwächere Ausscheidung des SCN als Chlorid, ebenso im Ödem der Magenwand, an beiden Stellen analog einer Filtration.

Eine Speicherung von nachweisbarem SCN in Schilddrüse und Nebenniere trat beim Hund nicht in Erscheinung.

Literatur.

[1] Eichler, O.: Pharmakologie der anorganischen Anionen. Die Hofmeistersche Reihe. Heffter-Heubners Handbuch Bd. X 1950. — [2] Gregersen, M. I., u. J. D. Stewart: Amer. J. Physiol. **125**, 142 (1939). — [3] Gellhorn, A., M. Merrel u. R. M. Rankin: Amer. J. Physiol. **142**, 407 (1944). — [4] Flexner, L. B., D. B. Cowie u. G. J. Vosburgh: Cold Spring Harbor Symp. XIII. 88 (1948). — [5] Molenaar, H., u. D. Roller: Z. klin. Med. **136**, 1 (1939). — [6] Eichler, O., I. Appel u. K. Schmeiser: Verhandlungsberichte der Dtsch. Pharmakol. Ges. 1950. — [7] Hartner, F.: Mikrochem. **10** 141 (1935). — [8] Hinsberg und Lang: Medizinische Chemie. — [9] Eichler, O. u. L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 39 (1942). — [10] Davenport, H. W.: Amer. J. Physiol. **129**, 505 (1940). — [11] Schwaiger, M.: Persönliche Mitteilung. Die Veröffentlichung wird nach seiner Mitteilung im „Chirurgen" erscheinen. — [12] Healey, J. C.: New. Engl. J. Med. **205**, 581 (1941). — [13] Baumann, E. J., u. N. Metzger: Federat. Proc. **6**, 237 (1947). — [14] Wood, J. L., u. E. F. Williams jr.: J. biol. Chem. **177**, 59 (1949).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 490—499 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Über die statistische Berechnung der Streuung von Stoffwechselwerten.

Von
Werner Förster.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. Oktober 1950.)

In der angelsächsischen Literatur werden thyreostatische Substanzen vorwiegend nach ihrem Einfluß auf die Gewichtszunahme und die histologischen Veränderungen der Schilddrüse beurteilt (Literaturzusammenstellung bei [1]). Die Tatsache, daß die von Kopf, Loeser, Meyer und Bielig[1] an Ratten durchgeführten Versuche mit Amino-Thiouracilen lediglich eine Stoffwechselsenkung ergaben ohne einen Einfluß auf das Gewicht und das histologische Bild der Schilddrüse auszuüben, unterstreicht die Bedeutung der Stoffwechseluntersuchungen bei der Beurteilung einer neuen thyreostatischen Substanz.

Bei der Auswertung von Ergebnissen experimenteller Stoffwechselversuche gilt die thyreostatische Wirksamkeit des untersuchten Pharmakons dann als festgestellt, wenn die Differenz zwischen den beim Versuch erhaltenen und den Kontrollwerten statistisch signifikant größer als Null ist. Für diese Berechnung muß σ (die Streuung der Einzelwerte um den Mittelwert) und σ_M (die mittlere Abweichung des Mittelwertes) bekannt sein. Diese beiden Größen wurden bisher[2, 3] bei Stoffwechselwerten entsprechend dem Gaussschen Fehlergesetz als positive bzw. negative Abweichung vom arithmetischen Mittelwert angegeben. Dabei setzte man voraus, daß das Gausssche Fehlergesetz, ursprünglich für physikalische Messungen aufgestellt, für die Verteilung der Stoffwechselwerte ebenso gelte wie für manche biologischen Größen (z. B. Körpermaße[4]). Vorbedingung dafür ist, daß die Möglichkeit des Anwachsens einer Größe in demselben Maße besteht wie deren Verringerung. Diese Voraussetzung wird in der Biologie nicht immer erfüllt. Fleisch und Tripod[5] z. B. zeigten, daß der Schwankungsbereich der Blutungszeiten am Kaninchenohr weder dem Schema $M \pm \sigma$, noch $M \cdot \sigma$, bzw. $M : \sigma$ folgt, sondern die beste Übereinstimmung der experimentell gefundenen Werte mit der Gaussschen Verteilung nach Transformierung der Ausgangswerte in eine Funktion entsprechend der Formel $\sqrt[4]{y}(\log y)^3$ besteht. In unserem Falle kann man erwarten, daß eine bestimmte

Steigerung des Stoffwechsels leichter möglich ist als eine gleich große Senkung (besonders evident im Falle der Extremwerte von 100%). Das arithmetische Mittel und die Angabe der Streuung als Plus- bzw. Minusvariante wird diesem Verhalten nicht gerecht. Wohl aber kann man eine Gausssche Verteilung erwarten, wenn man die arithmetische durch eine geometrische Reihe ersetzt, d. h. den Berechnungen statt des arithmetischen das geometrische Mittel (= arithmetisches Mittel der Logarithmen) zugrundelegt und die Streuung durch Addition bzw. Subtraktion von σ_M der in Logarithmen umgewandelten Ausgangsvariablen abgrenzt.

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, aus einer größeren Zahl von verschiedenartigen Funktionen derselben experimentell gefundenen Stoffwechselgrößen diejenige Funktion herauszufinden, deren Verteilungskurve mit der Gauss-Kurve am besten übereinstimmt.

Der Untersuchung liegen 2 große Serien von Rattenstoffwechselwerten der Arbeiten von Kopf, Loeser, Meyer und Bielig[1] und Kopf[6] zugrunde, die wegen der hohen Zahl der Einzelwerte für eine statistische Bearbeitung besonders geeignet waren. Für ihre freundliche Überlassung danken wir den Verfassern auch an dieser Stelle.

Methodik.

Die der Arbeit von Loeser u. Mitarb.[1] zugrundeliegenden 345 normalen Rattenstoffwechselwerte wurden nach verschiedenen Funktionen in je 17 Klassen so eingeteilt, daß der kleinste und größte Wert eben noch mit eingeschlossen waren. An Funktionen wurden ausgewertet: y, $\log y$, $1/y$, $\sqrt{y}$, $\sqrt[3]{y}$, $1/y^2$, y^2, y^3 und die von Fleisch und Tripod angegebene Funktion $\sqrt[4]{y\ (\log y)^3}$, wobei die logarithmische Funktion mit 5 verschiedenen Klasseneinteilungen durchgerechnet wurde, um ein zufälliges Ergebnis auszuschalten. Die Verteilungen der 10 Funktionen, die der Gausssschen Normalverteilung am nächsten kamen, wurden nach der von E. Weber[7] angegebenen Methode des Vergleiches einer empirischen Häufigkeitsverteilung mit der Gauss-Verteilung durchgerechnet. In Tab. 3 ist der Rechenvorgang ausführlich wiedergegeben. Es bedeuten die Werte der Spalte 1 die Klassenmitten der nach der jeweiligen Funktion der Ausgangsvariablen aufgestellten Klasseneinteilung. x ist die Funktion der Variablen, also $x = \log y$, $x = y$ usw. A, als die Klassenmitte der am stärksten besetzten Klasse, ist ein in der Nähe des arithmetischen Mittelwertes M liegender Wert. Für die Berechnung von σ dient A als vorläufiger Mittelwert, wodurch das Rechenverfahren wesentlich vereinfacht wird. z der Spalte 2 gibt die Zahl der in jede Klasse fallenden Ausgangsvariablen an, bezeichnet also die Klassenhäufigkeiten. a der Spalte 3 zeigt die Größe der Abweichung von A an: $a = x - A$. Der Vorteil der Verwendung von A statt M besteht darin, daß a stets ganzzahlig bleibt. Die Streuung wurde nach der Multiplikationsmethode gemäß der angegebenen Formel berechnet, worin d das Klassenintervall und n die Gesamthäufigkeit bedeuten. Die Sheppardsche Korrektur des σ-Wertes (σ_K) gleicht den Einfluß der Klassengröße auf die Größe von σ aus. Je gröber die Klasseneinteilung, um so größer σ. Beim Vergleich einer relativ grobklassig eingeteilten Reihe, wie sie jede empirische darstellt, mit der Normalverteilung ist diese Korrektur von σ erforderlich. σ_K wurde nach der in Tab. 3 angegebenen Formel

berechnet. Die der verwendeten Klassengröße und Größe von σ entsprechenden Werte der GAUSSschen Normalverteilung sind in der mit w bezeichneten 9. Spalte angegeben. Als Hilfswerte dafür müssen t nach der angegebenen Formel und die Werte von $\varphi(t)$ berechnet werden. $\varphi(t)$ ist tabuliert und wurde der bei WEBER angeführten Tabelle entnommen. $\varphi(t)$ entspricht dem Ausdruck $\frac{1}{2\pi} e^{-\frac{t^2}{2}}$.

Die Beurteilung der Übereinstimmung zwischen empirischer und GAUSSscher Verteilung erfolgte mittels der χ^2-Methode nach K. PEARSON. χ^2 ist definiert als die Summe der Abweichungsquadrate der empirischen von den GAUSSschen Werten, dividiert durch den Erwartungswert für jede Klasse. Der χ^2-Test darf nur angewandt werden, wenn in jeder Klasse mindestens 5 Erwartungswerte vorkommen[8]. Für die χ^2-Auswertung mußten daher am Beginn und Ende der Verteilungsreihe mehrere Klassen zusammengezogen werden, um die erforderliche Häufigkeitszahl zu erhalten. Für diese zusammengezogenen Klassen wurde ein einziger χ^2-Wert errechnet. Die Zahl der Freiheitsgrade des χ^2-Testes ist um 1 kleiner als die Anzahl der χ^2-Einzelwerte. Die empirische Häufigkeitsverteilung gilt der Normalverteilung als schlecht angepaßt, wenn der χ^2-Wert für $P = 0{,}05$ ($= 5\%$) niedriger ist als der empirisch gefundene.

Für den graphischen Vergleich der verschiedenen einzelnen Verteilungskurven mußte ein einheitlicher Abszissen- und Ordinatenmaßstab gewählt werden. Nur so konnten die einzelnen Kurven unmittelbar untereinander und mit der GAUSSschen Kurve verglichen werden. Als Abszisseneinheit wurde $\sigma_K = 2{,}5$ cm gewählt. Auf diese Einheit mußten daher alle σ_K der einzelnen Verteilungen umgerechnet werden. Dies geschah mittels eines Hilfswertes B: $B = \frac{2{,}5}{\sigma_K}$. B mit der Klassendifferenz d multipliziert ergab die der Klassengröße entsprechende Abszisseneinheit in cm. Die Abszissenwerte der einzelnen Klassenmitten wurden nun von der Maximalordinate ausgehend berechnet. Da nicht mit dem Mittelwert M, sondern mit A gerechnet wurde, mußten auch die für die einzelnen Klassen gefundenen Abszissenwerte um eine der Differenz $M—A$ entsprechende Größe verschoben werden. Diese findet man durch Multiplikation der Größe B mit der Differenz von M und dem Klassenmittelwert der zugehörigen Klasse. Die um die Verschiebungswerte korrigierten Abszissenwerte der Klassen sind die endgültigen Abszissenwerte (Spalte 11). Weiter wurde die Maximalordinate der GAUSSschen Kurve mit $\frac{1}{4}$ mal 0,399 m = 9,97 cm festgesetzt. Der Maximalordinate entspricht der Ausdruck $w_o(x)$ [7], der in unserem Falle die Größe hat: $w_o(x) = \frac{0{,}5642 \cdot n \cdot d}{\sigma_K \cdot \sqrt{2}}$. Dividiert man $w_o(x)$ durch die Größe der Maximalordinate (9,97), erhält man die Einheit des Ordinatenwertes o. Durch Division der w-Werte durch die Einheit des Ordinatenwertes o erhält man die Ordinaten der GAUSSschen Kurve, die als graphische Kontrolle der richtigen Berechnung dienen können (siehe Spalte 12), durch Division der z-Werte durch die Einheit des Ordinatenwertes o erhält man die Ordinaten der empirischen Verteilung (siehe Spalte 13 der Tab. 3).

Mit der geschilderten Methodik wurden als Auswertung einer zweiten Versuchsreihe 213 normale Rattenstoffwechselwerte aus der Arbeit von R. KOPF[6] bei logarithmischer und arithmetischer Klasseneinteilung durchgerechnet.

Ergebnisse.

Tab. 1 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der Auswertung der ersten Versuchsreihe. Den 6 verschiedenen Funktionen der Ausgangsvariablen und 10 berechneten Verteilungskurven (Spalte 1) sind in

Spalte 2 die errechneten χ^2-Werte zugeordnet (siehe auch als Beispiel Tab. 3*). In Spalte 3 sind die für ein $P = 0{,}05$ und die entsprechende Zahl von Freiheitsgraden zulässigen χ^2-Höchstwerte angeführt. In jedem Falle, bei dem der χ^2-Wert der Spalte 2 niedriger ist als der der Spalte 3, besteht eine gute Übereinstimmung zwischen der experimentell gefundenen und der Gaussschen Verteilungskurve. Tab. 1 zeigt, daß die χ^2-Werte der Funktion $\log y$ bis auf eine Ausnahme mehr oder weniger erheblich unter dem zulässigen Höchstwert liegen, d. h. mit der Gaussschen Verteilung gut übereinstimmen. Die nach der von Fleisch und Tripod angegebenen Formel berechnete Verteilungskurve weist nur geringgradige Abweichungen von der Normalverteilung auf. Dagegen überschreiten die χ^2-Werte der 4 restlichen Funktionen ($\sqrt{y}$, $\sqrt[3]{y}$, y, $1/y$) den χ^2-Höchstwert ungefähr um das Doppelte, dadurch also eine sichere Abweichung von der Normalverteilung anzeigend.

Tabelle 1. *Gegenüberstellung der bei verschiedenen Funktionen gefundenen χ^2-Werte und der für eine gute Anpassung zulässigen χ^2-Höchstwerte. Der Berechnung liegen 345 Rattenstoffwechselnormalwerte der Arbeit von* Loeser *u. Mitarb.*[1] *zugrunde. Die logarithmische Funktion wurde mit 5 verschiedenen Klasseneinteilungen durchgercchnet, um ein zufälliges Ergebnis auszuschließen.*

Funktion, die der Klasseneinteilung zugrunde liegt	χ^2	Bei $P = 0{,}05$ zulässiger χ^2-Höchstwert
$\log y$	13,0126	19,68
$\log y$	14,5918	19,68
$\log y$	15,5213	16,92
$\log y$	16,3793	19,68
$\log y$	20,5179	19,68
$\sqrt[4]{y(\log y)^3}$	18,4540	18,31
$\sqrt{y}$	30,6471	18,31
$\sqrt[3]{y}$	27,2233	18,31
y	39,0695	18,31
$1/y$	36,7991	18,31

Abb. 1 vermittelt ein graphisches Bild von der Größe der Abweichung der einzelnen Verteilungskurven von der Gauss-Verteilung. Die schraffierte Fläche verbindet die Extremwerte aller 5 logarithmischen Verteilungskurven mit der Gaussschen Kurve. Die Kurven der Funktionen mit den höchsten χ^2-Werten zeigen auch graphisch die größten Abweichungen von der Normalverteilungskurve.

Bei Untersuchung der Funktionen y^2, y^3 und $1/y^2$ weisen die Häufigkeitswerte z in den einzelnen Klassen eine noch stärkere Asymmetrie als

* Weitere 9 Tabellen können zur Einsichtnahme beim Autor angefordert werden.

die Verteilungen mit den höchsten χ^2-Werten auf, so daß auf eine genaue statistische Auswertung verzichtet werden konnte*.

Bei der Auswertung der zweiten Versuchsreihe wurden nur die Stoffwechselgrößen selbst (y) sowie deren Funktion log y durchgerechnet**. Die in Tab. 2 gegenübergestellten χ^2-Werte bestätigen das Ergebnis der Tab. 1: das χ^2 der Funktion log y liegt weit unter dem zulässigen Höchstwert, das χ^2 der arithmetischen Verteilungskurve überschreitet ihn.

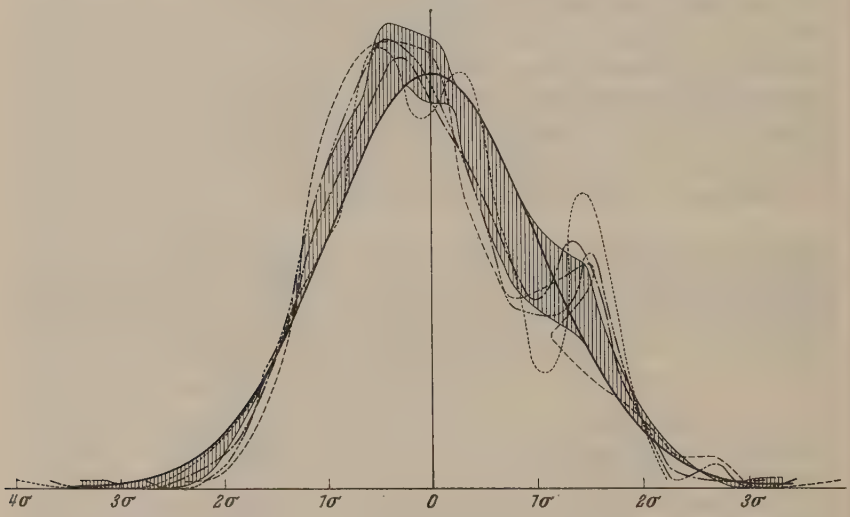


Abb. 1. Graphischer Vergleich der mit den verschiedenen Funktionen der Ausgangsvariablen berechneten Verteilungskurven, bezogen auf den einheitlichen Maßstab $\sigma K = 2{,}5$ cm und Maximalordinate der GAUSS-Verteilung $w_o(x) = 9{,}97$ cm. Zugrunde liegen die Werte von LOESER u. Mitarb.[1] ———— GAUSSsche Kurve, |||||||||||| Abweichungen der Extremwerte aller 5 logarithmischen Verteilungskurven von der GAUSSschen Kurve, ———— Klasseneinteilung bei Verwendung der Funktion $\chi = y$, ····· Klasseneinteilung bei Verwendung der Funktion $\chi = 1/y$, —···—···— Klasseneinteilung bei Verwendung der Funktion $x = \sqrt{y}$, —·—·— Klasseneinteilung bei Verwendung der Funktion $x = \sqrt[4]{y(\log y)^2}$.

Tabelle 2. *Gegenüberstellung der bei verschiedenen Funktionen gefundenen χ^2-Werte und der für eine gute Anpassung zulässigen χ^2-Höchstwerte. Der Berechnung liegen 213 Rattenstoffwechselnormalwerte der Arbeit von* KOPF[6] *zugrunde.*

Funktion, die der Klasseneinteilung zugrunde liegt	χ^2	Bei $P = 0{,}05$ zulässiger χ^2-Höchstwert
log y	13,737	21,03
y	22,4838	19,68

Beide Versuchsreihen zeigen also, daß unter den 9 hier untersuchten Funktionen nur die logarithmische imstande ist, experimentelle Stoffwechselergebnisse in eine Normalverteilung zu überführen.

* Tab. 13—15 vom Autor anzufordern.

** Tab. 16—17 vom Autor anzufordern.

Tabelle 3.

I assen- tten log y	z	a	za	a^2	za^2	$t=\frac{d}{\sigma_k}(a-b)$	$\varphi(t)$	$w=\frac{nd}{\sigma K}\varphi(t)$	$\frac{\chi^2=(z-w)^2}{w}$	Absc.	Ord. w	Ord. z
29—1	1	—7	— 7	49	49	3,1805	0,00254	0,341		7,94	0,01	0,18
07	0	—6	0	36	0	2,791	0,00812	1,092		6,97	0,20	0
	8							11,535	1,0833			
85	2	—5	— 10	25	50	2,401	0,02234	3,003		6,00	0,56	0,37
63	5	—4	— 20	16	80	2,011	0,05281	7,099		5,02	1,32	0,93
41	14	—3	— 42	9	126	1,622	0,10706	14,465	0,0149	4,05	2,68	2,6
19	30	—2	— 60	4	120	1,232	0,18678	25,109	0,9527	3,07	4,66	5,57
97	41	—1	— 41	1	41	0,843	0,27963	37,592	0,3089	2,1	6,98	7,62
			— 180									
75=A	54	0	0	0	0	0,453	0,36004	48,401	0,6476	1,13	9,0	10,03
53	50	1	50	1	50	0,063	0,39814	53,523	0,2319	0,16	9,95	9,3
31	50	2	100	4	200	0,326	0,37829	50,855	0,0144	0,82	9,45	9,3
09	28	3	84	9	252	0,716	0,30873	41,504	4,3937	1,79	7,71	5,2
87	27	4	108	16	432	1,106	0,21641	29,093	0,1506	2,76	5,41	5,02
65	26	5	130	25	650	1,495	0,13048	17,541	4,0793	3,74	3,26	4,83
43	12	6	72	36	432	1,885	0,06750	9,074	0,9435	4,71	1,69	2,23
21	4	7	28	49	196	2,275	0,02999	4,032		5,68	0,75	0,74
	5							6,08	0,1918			
99	0	8	0	64	0	2,664	0,01148	1,543		6,653	0,29	0
77	1	9	9	81	81	3,054	0,00376	0,505		7,62	0,01	0,18
			+ 581									
me:	345		— 180		2759				$\chi^2=$ 13,0126			
			401									

$d = 0{,}0278$ $\qquad \frac{\Sigma za^2}{n-1} = 8{,}02035$ $\qquad \frac{\Sigma za}{n} = b = 1{,}16232$ $\qquad b^2 = 1{,}35098$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma za^2}{n-1} - b^2 \cdot d} = \sqrt{8{,}02035 - 1{,}35098 \cdot 0{,}0278} = 0{,}07179$$

$$\sigma_K = \sqrt{\sigma^2 - \frac{d^2}{12}} = 0{,}07134$$

$$M = A + \frac{\Sigma za}{n} \cdot d = 0{,}1675 + (1{,}16232 \cdot 0{,}0278) = 0{,}1998$$

$$\frac{d}{\sigma_K} = 0{,}38966 \qquad \frac{nd}{\sigma_K} = 134{,}4335$$

Zur graphischen Darstellung: Berechnung der Ordinatenwerte

$$w_o(x) = \frac{0{,}5642 \cdot n \cdot d}{\sigma_K \cdot \sqrt{2}} = \frac{0{,}5642 \cdot 345 \cdot 0{,}0278}{0{,}07134 \cdot 1{,}414} = 53{,}645$$

$\frac{w_o(x)}{9{,}97} = a = \frac{53{,}645}{9{,}97} = 5{,}38$ Die einzelnen Werte von z und w durch 5.38 dividiert, ergeben die Ordinatenwerte.

Korrektur und Berechnung der Abszissenwerte:

$$\sigma_K \sim 2{,}5 \text{ cm}; \quad \frac{2{,}5}{\sigma_K} = B = \frac{2{,}5}{0{,}07134} = 35{,}04$$

(M minus Klassenmittelwert der zugehörigen Klasse). B ergibt Größe der Verschiebung der Abszisse in cm.

0,1998	0,0045 . 35,04 = 0,1577 cm = Verschiebungsgröße der Abszissenwerte.
—0,1953	$B.\ d$ = der Klassengröße entsprechende Abszissenverschiebung:
0,0045	35,04 · 0,0278 = 0,974 cm. Die Klassengröße entspricht hier 0,974 cm

Besprechung der Ergebnisse.

Eine einwandfreie Auswertung eines biologischen Versuchsergebnisses liegt nur dann vor, wenn die dem Einzelfalle entsprechende statistische Rechenmethode verwendet wird. Bei jeder Berechnung eines Mittelwertes z. B. ist zu überlegen, ob die Reihe, aus der einzelne Stichprobenwerte vorliegen, eine additive oder multiplikative darstellt und dementsprechend ist der arithmetische oder geometrische Mittelwert zu berechnen. Im Zweifelsfalle entscheidet das Ergebnis einer Untersuchung, durch welche Funktion der Ausgangswerte die Verteilungskurve einer GAUSSschen Normalverteilung angenähert werden kann. Dieser Gesichtspunkt wird bei der Auswertung biologischer Ergebnisse nicht immer gebührend berücksichtigt. Die meisten biologischen Versuchsergebnisse werden noch entsprechend dem GAUSSschen Fehlergesetz berechnet, das besagt, daß jeder Einzelwert einem Ablesungsfehler unterliegt, der eine Plus-Minus-Abweichung von dem „wahren" Versuchswert darstellt. Die Werte mit den Ablesungsfehlern ergeben dann die bekannte GAUSSsche Verteilungskurve. Verschiedene biologische Versuchsergebnisse ein und derselben Art stellen jedoch meist keine Ablesungsfehler im physikalischen Sinne dar, sondern sind begründet in biologischen Ursachen, wie verschiedener Reaktionsweise auf Grund konstitutioneller Faktoren, Geschlecht, Gewicht, Alter, Ernährung usw. und deren Einwirkung auf die Reaktionsgröße des betreffenden Organismus. Diese Variation biologischen Materials kann im Endergebnis auch eine Abweichung von dem Mittelwert im Sinne der GAUSSschen Verteilung ergeben, sie kann aber auch andere Formen annehmen. Die GAUSSsche Verteilung ist somit nur ein Spezialfall eines allgemeineren Verteilungsgesetzes.

Zur Berechnung der Größe der biologischen Variation bemüht man sich im allgemeinen, die Verteilungskurven durch entsprechende Änderung der ihnen zugrunde liegenden Funktion der Ausgangsvariablen in eine GAUSSsche Normalverteilung zu überführen. Dies ist jedoch nicht unbedingt erforderlich. GEBELEIN und HEITE[9] z. B. empfehlen, mit den asymmetrischen Verteilungskurven zu rechnen, die sie „Normalverteilung zweiter Art" nennen, und denen meist das multiplikative, in der

Biologie sehr häufige Prinzip zugrunde liegt, ohne sie durch Einführung von Logarithmen in eine Gausssche Normalverteilung „erster Art" zu überführen. Von dieser Methode wurde in der vorliegenden Untersuchung kein Gebrauch gemacht.

Daß neben dem additiven oder multiplikativen Prinzip in der Biologie noch andere Verteilungsformen vorkommen können, haben Fleisch und Tripod — wie schon kurz erwähnt — gezeigt, indem sie nachwiesen, daß die Blutungszeit am Kaninchenohr durch 2 Faktoren bestimmt wird: die Blutungszeit selbst gehorcht einer geometrischen, also multiplikativen Reihe, während das Abstoppen der Blutungszeiten ähnlich wie das Ablesen einer physikalischen Größe einer arithmetischen, also additiven Reihe gehorcht. Daher erhalten die Verfasser eine der Gaussschen Normalverteilung am besten angepaßte Verteilungskurve unter Zugrundelegung einer Funktion, die weder der additiven noch der multiplikativen rein entspricht und durch die schon erwähnte Formel $\sqrt[4]{y\,(\log y)^3}$ ausgedrückt wird.

Daß in der Biologie, wie auch Gebelein und Heite betonten, den Ergebnissen sehr häufig das multiplikative Prinzip zugrunde liegt, hat seine Ursache in dem Weber-Fechnerschen Gesetz, das besagt, daß die durch einen Reiz ausgelöste Reaktion nicht der Reizstärke selbst, sondern dem Logarithmus derselben proportional ist. So ist schon lange allgemein üblich, für die Aufstellung von Dosenwirkungskurven die Dosen nicht in gleichen arithmetischen, sondern in gleichen logarithmischen Abständen zu steigern[10, 11].

Das multiplikative Prinzip besagt, daß von einem Mittelwert ausgehend nach unten nie der Nullwert erreicht werden kann. Dies stellt das mathematische Analogon zu der physiologischen Tatsache dar, daß es mit dem Leben unvereinbar ist, wenn gewisse Lebensvorgänge unter eine bestimmte Größe absinken wollten. Für die Aufrechterhaltung des Lebens sind — im Einzelnen wechselnd hohe — Minimalwerte z. B. des Blutdruckes, des Stoffwechsels, der Durchblutung verschiedener lebenswichtiger Organe, der Harnausscheidung usw. nötig. Jede Senkung dieser Größen um einen bestimmten Absolutbetrag ist für den Organismus wesentlich schwieriger und schwerwiegender als eine ebenso hohe Steigerung. In allen solchen Fällen ist daher zu erwarten, daß, statistisch gesehen, nicht das additive, sondern das multiplikative Prinzip zugrunde, liegt. Die Gültigkeit dieser Annahme konnten wir in der vorliegenden Arbeit an zwei größeren Versuchsserien für den Spezialfall des Stoffwechsels nachweisen. Trotz der nur kleinen Zahl von ausgewerteten Versuchsreihen, glauben wir doch auf Grund obiger allgemeinphysiologischer Überlegungen die vorliegenden Ergebnisse, zumindest für den Stoffwechsel, verallgemeinern zu dürfen.

Wir möchten daher für die exakte Auswertung von Stoffwechselergebnissen empfehlen, statt des arithmetischen Mittels M, das richtigere geometrische Mittel G zu verwenden:

$$\log G = \frac{\Sigma \log y_i}{n}$$

und statt die Streuung als Plus-Minus-Variante des arithmetischen Mittels anzugeben, die Streuung asymmetrisch entsprechend dem multiplikativen Prinzip auszudrücken. Dabei wird die Streuung der zugrundeliegenden Logarithmen ganz analog der von KOLLER[12] für σ angegebenen Formel berechnet:

$$\sigma_{\log y} = \sqrt{\frac{\Sigma (\log y_i - \log G)^2}{n-1}} \quad \text{und} \quad \sigma_{M \log y} = \frac{\sigma_{\log y}}{\sqrt{n}}$$

Die Streuung ist: $\log G \pm t \cdot \sigma_{M \log y}$ oder arithmetisch ausgedrückt: $G \cdot / : 10^{t \cdot \sigma M \log y}$ bei Verwendung der Zehner-Logarithmen.

Praktisch vollzieht sich das Arbeiten mit der logarithmischen Funktion so, daß man zu Beginn die Variablen durch ihre Logarithmen ersetzt, den üblichen Rechenvorgang durchführt und am Schluß delogarithmiert, d. h. den Numerus aufsucht.

Bei Verwendung des von uns vorgeschlagenen Verfahrens ist es denkbar, daß der Unterschied zu der bisher üblichen Berechnungsmethode im Endergebnis in manchen Fällen nicht sehr groß sein könnte. Da der geometrische Mittelwert stets kleiner als der arithmetische ist, könnte die Differenz zwischen arithmetischem und geometrischem Wert fast ebenso groß sein, wie der Unterschied zwischen der arithmetischen und logarithmischen Berechnung von σ. Ein solches annähernd richtiges Ergebnis könnte man jedoch mit einer Rechnung vergleichen, bei der sich zwei Fehler wieder ausgleichen und ein richtiges Resultat erscheint. Da die Mehrarbeit des Aufsuchens der Logarithmen und Numeri im Verhältnis zu der für jeden Stoffwechselversuch aufzuwendenden Arbeit verschwindend gering ist, möchten wir doch an unserer Empfehlung der logarithmischen Berechnung von σ festhalten.

Zusammenfassung.

Es wurden zwei größere Serien von Ratten-Stoffwechselwerten hinsichtlich ihrer Annäherung an die GAUSSsche Normalverteilung bei verschiedenen Funktionen statistisch ausgewertet und gefunden, daß die χ^2-Werte — als Maß der Übereinstimmung mit der GAUSS-Kurve — nur bei Einführung der Logarithmen unter dem für signifikante Abweichungen geltenden Grenzwert bleiben. Die Berechnung der Streuung von Stoffwechselwerten muß daher mittels logarithmischer Werte, d. h. unsymmetrisch erfolgen.

Für freundliche Beratung in statistischen Fragen und wertvolle Anregung danke ich verbindlichst Frau Priv. Doz. Dr. M. P. Geppert, Herrn Prof. Dr. R. Prigge und Herrn Dr. H. Schultheiss.

Literatur.

[1] Kopf, R., A. Loeser, G. Meyer u. H. J. Bielig: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 256 (1949). — [2] Herrington, L. P.: Amer. J. Physiol. **129**, 123 (1940). — [3] Lundholm, L.: Acta phys. Scand. **18**, 259 (1949). — [4] Quetelet, A.: Sur l'homme et le développement de ses facultés, ou essai de physique sociale. Zit. nach Weber, E.: Grundriß der biolog. Statistik. — [5] Fleisch, A., u. J. Tripod: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **200**, 135 (1942). — [6] Kopf, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 58 (1950). — [7] Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Jena: Fischer 1948. — [8] Yule, G. U., and M. G. Kendall: An Introduction to the theory of Statistics. London: Charles Griffin 1950. — [9] Gebelein, H., u. H. J. Heite: Klin. Wschr. **28**, 41 (1950). — [10] Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin: Springer 1937. — [11] Litchield, J. T. jr., and F. Wilcoxon: J. Pharmacol. & Exper. Therap. **96**, 99 (1949). — [12] Koller, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden: Steinkopf 1942.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 500—504 (1951).

Aus dem Hauptlaboratorium der SCHERING A.G., West-Berlin.

Eine neue Form parenteraler Arzneimittelanwendung*.

Von

KARL JUNKMANN.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. September 1950.)

Die mangelhafte lokale Verträglichkeit von Arzneimitteln in öliger Lösung bei parenteraler Injektion[5, 7, 8, 9] war die Veranlassung, ein Verfahren auszuarbeiten, das bei Herabsetzung der lipoiden Grundmasse auf ein Minimum eine exakte Dosierung gestattet.

Beschreibung: Eine Stahlkanüle von 0,7 mm lichter Weite und 4,5 cm Länge ist an einem Ende angeschliffen. Am anderen Ende ist sie fest mit einem Kopfteil verbunden, der eine Führung für einen entsprechenden am Mandrin befestigten Führungsteil bildet. Diese Anordnung gestattet, den Mandrin innerhalb der Nadel bis zu einem durch Anschlag fixierten Punkt zurückzuziehen. Nach Ergreifen des Kopfteils der Nadel zwischen Daumen und Mittelfinger kann durch Druck mit dem Zeigefinger auf den Kopfteil des Mandrins letzterer bis zur Nadelspitze vorgeschoben werden. Die Nadeln können mit Hilfe einer geeigneten Dosierungsvorrichtung im zusammengeschobenen Zustand von der Spitze her mit einer Paste oder Salbe gefüllt werden, wobei der Mandrin bis zum Anschlag zurückgleitet. Durch Niederdrücken des Kopfteils des Mandrin in der oben beschriebenen Weise kann nun die Füllung als schwacher Strang entleert werden. Eine Nadelfüllung entspricht etwa 7 mg.

Bei Anwendung zur Arzneimittelapplikation am Menschen muß die Füllung der vorher sterilisierten Nadel mit einer sterilen Paste unter Wahrung der Sterilität erfolgen. Das ist unter Berücksichtigung der Haltbarkeit von Vehikel und Arzneimittel durch Auswahl geeigneter Sterilisierungsmethoden durchaus durchführbar. Ein steriler Abschluß der ganzen Nadel durch ein darüber gezogenes und mit einem Tröpfchen Wachs verkittetes kapillares Glasröhrchen erlaubt es, die Nadeln auch für späteren Gebrauch steril zu halten. Ein kleiner Wachstropfen am Austritt des Mandrins am Kopfteil der Nadel verhütet ein Eindringen von Keimen auf dieser Seite. So zugerichtet, bildet die Nadel eine jederzeit gebrauchsfähige Arzneimittelpackung zur parenteralen Anwendung, die den Arzt der Notwendigkeit enthebt, steriles Injektionsgerät bereitzuhalten.

* Herrn Geheimrat E. ROST zum 80. Geburtstag gewidmet.

Mit Nadeln der beschriebenen Größe lassen sich Arzneimittelgaben bis zu 5 mg beibringen. Durch Verlängerung des Pastenraums und unter Benutzung von Nadeln größerer lichter Weite kann auch noch die Zufuhr

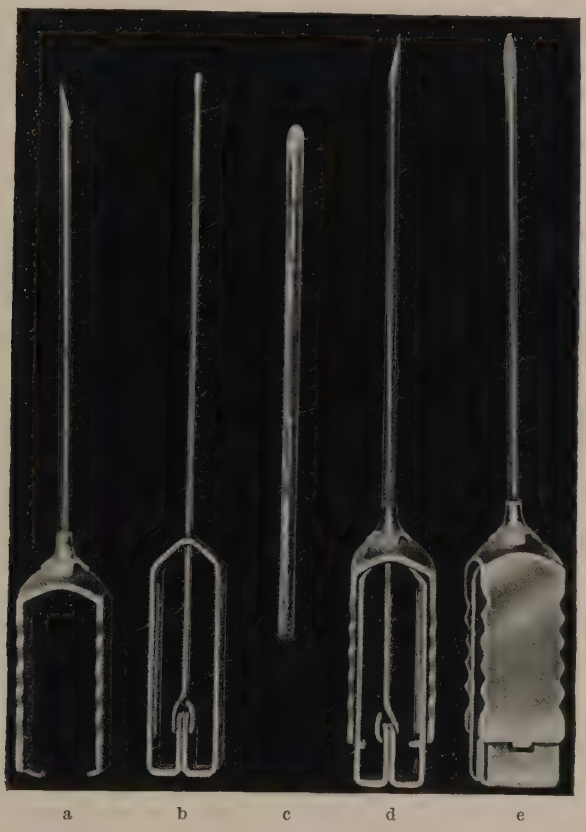


Abb. 1. a) Nadel mit Führungsteil, b) Mandrin mit Kopfteil, c) Glaskanüle als Schutz der Nadel, d) Nadel komplett entleert, Seitenansicht ohne Glaskapillare, e) Nadel komplett entleert, Frontansicht ohne Glaskapillare.

von 25—30 mg ermöglicht werden, ohne das Gerät übermäßig grob zu gestalten.

Zur Beurteilung der Brauchbarkeit der Nadeln wurde die Toxizität und Ausscheidung von Stoffen nach geläufiger Verabreichungsart mit der unter Anwendung der Nadel verglichen. Hierzu wurde die Nadel unter die Haut bzw. in die Muskulatur entsprechend weit vorgeschoben und langsam entleert.

I. Die Toxizität von Strychninbase in wäßriger Lösung und in Postonalpaste nach subkutaner Verabreichung bei der weißen Maus:

Aus Strychninum nitricum durch Ammoniak ausgefällte Base wurde als wäßrige Lösung (2—8 mg%) an je 10 Mäusen von 20 g subkutan verabreicht.

Die Abstufung der Dosen erfolgte mit dem Faktor $\sqrt[3]{2}$. Die LD 50 betrug 0,98 mg je kg Maus. Nach FALCK[2] liegt die LD 50 bei erwachsenen Mäusen nach subkutaner Zufuhr zwischen 0,5—1,25 mg pro kg Maus.

In einer zweiten Reihe wurde die Strychninbase in geschmolzenem Postonal gelöst. Eine Nadelfüllung entsprach 7 mg Paste, die in der Ausgangspaste 70 γ Strychnin enthielt. Die Verdünnungen der Paste mit reinem Postonal wurden gleichfalls mit dem Faktor $\sqrt[3]{2}$ hergestellt. Die ermittelte LD 50 betrug 1,95 mg je kg Maus. Ein Unterschied hinsichtlich Zeitpunkt und Häufigkeit der Krämpfe zwischen wäßriger Strychninlösung und Strychninpaste konnte nicht beobachtet werden (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1. *Bestimmung der LD 50 von Strychnin-Base nach subkutaner Verabreichung an Gruppen von je 10 Mäusen von 20 g. Abstufung der Dosen mit dem Faktor.*

Wäßrige Lösung:				Im Postonal je Tier 7 mg Paste:		
Verwend. Lösung mg%	cm³ Lösung 20 g Maus	γ-Strychnin g Maus	+	% Strychnin im Postonal	γ-Strychnin g Maus	+
8	1,0	4,00	10	1,0	3,50	10
8	0,5	2,00	10	0,794	2,80	10
8	0,39	1,56	9	0,63	2,20	6
8	0,31	1,24	10	0,50	1,75	4
4	0,5	1,00	6	0,396	1,38	2
4	0,39	0,78	1	0,315	1,10	0
4	0,31	0,62	2			
2	0,5	0,5	0			
LD 50 = 0,97 γ/g Maus				LD 50 = 1,95 γ/g Maus		

Es wird demnach bei subkutaner Darreichung ein lipoidlöslicher Stoff aus wäßriger Lösung rascher aufgenommen als aus Postonalpasta.

Zur Beurteilung der Resorption wurde die Ausscheidung von Phenolsulfonphthalein (PhS) bei der Ratte verfolgt, und zwar nach intravenöser Verabreichung als Natriumsalz, nach subkutaner Gabe als PhS in Gummisuspension bzw. PhS-Paste unter die Rückenhaut und als PhS-Paste intramuskulär in den Oberschenkel. Die Paste bestand aus Adeps lanae anhydricus mit 60% PhS.

Die Exaktheit der Dosierung wurde durch Differenzwägung der Nadel vor und nach der Entleerung kontrolliert. PhS gehört bekanntlich zur Gruppe der vorwiegend durch tubuläre Sekretion ausgeschiedenen Stoffe. Es bietet den Vorteil rascher Elimination und läßt sich chemisch sehr einfach auch in hohen Verdünnungen noch bestimmen.

Die Bestimmung des PhS im Harn erfolgte kolorimetrisch als Natriumsalz durch Zusatz von Zitratpuffer von p_H 12 im HAVEMANN-Kolorimeter mit dem Filter V G 2.

Bei den großen Verdünnungen, die hier möglich sind, spielt die Eigenfarbe des Harnes keine Rolle.

Je 4 Ratten saßen in einem Stoffwechselkäfig auf 2 Sieben, um den Kot von den Tieren, sowie Verunreinigungen vom Harn fernzuhalten. Sie erhielten von außen in Trinkgefäßen flüssige Nahrung. Der Harn wurde nach ½, 1, 2, 4, 7, 24 Std durch Ausspülen der Käfige mit der Pipette abgegrenzt.

In dem Diagramm (Abb. 2) ist der im Körper verbleibende PhS-Anteil in Prozenten des Zugeführten in einem halblogarithmischen System zur Zeit in Beziehung gesetzt. Diese Form der Darstellung der Elimination als *e*-Funktion ist in Anlehnung an theoretische Ableitungen von DRUCKREY[3] und DOST[2] eine konsequente Weiterführung der Wiedergabe von Bilanzversuchen der Arbeiten LANGECKER[6] und CLERC[1].

Nach diesen Versuchen ist bei Darreichung in Pastenform Resorption und Ausscheidung verzögert, besonders deutlich bei intramuskulärer Darreichung, was in dem relativ geringen Volumen der benutzten Oberschenkelmuskulatur eine Erklärung finden dürfte.

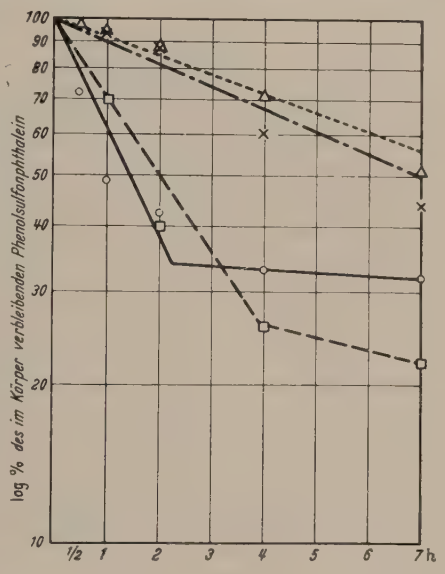


Abb. 2. Elimination von Phenosulfonphthalein als *e*-Funktion zwischen Absinken des im Körper verbleibenden Restes und der Zeit.

○——○ Intravenös als Na-Salz;

□— —□ subkutan als Emulsion;

△- - -△ intramuskulär als Paste;

×—·—× subkutan als Paste.

Zusammenfassung.

Es wird eine Nadel beschrieben, die es gestattet, Arzneimittel in kleinsten Mengen lipoider Pastengrundlage genau dosiert zu verabreichen. In geeigneter Weise verpackt, stellen diese Nadeln eine jederzeit gebrauchsfertige Arzneizubereitung zur parenteralen Verwendung dar. Sie ersparen die Bereithaltung sterilen Injektionsgerätes. Ihre Anwendung in Fällen, bei denen bisher ölige Lösungen verabreicht werden mußten, dürfte die Häufigkeit von Ölabszessen herabsetzen.

Ein Toxizitätsvergleich mit Strychninbase ergab eine Resorptionsverzögerung aus der Paste gegenüber der wäßrigen Lösung. Der Vergleich

der Ausscheidung von Phenolsulfonphthalein zeigt eine Verzögerung der Resorption bei Pastenanwendung gegenüber wäßriger Suspension.

Für viele Fälle bildet die Resorptionsverzögerung bei Anwendung von Arzneimitteln in Pastenform Vorteile (Steroidhormone, Insulin usw.). Versuche, Aufschluß über die Bedeutung verschiedener Pastengrundlagen für die Resorptionsgeschwindigkeit zu erhalten, sind im Gange.

Literatur.

[1] Clerc, E.: Diss. Berlin (1950). — [2] Dost, F. H.: Klin. Wschr. **1919**, 257. — [3] Druckrey, H.: Die Pharmacie. 8. Beiheft, 1. Ergbd. Berlin: Saenger 1949. — [4] Falck, F. A.: Arch. f. Physiol. **36**, 285 (1885). — [5] Jorstad, L. H., u. F. H. Glenn: J. Amer. med. Assoc. **90**, **1**, S. 26 (1928). — [6] Langecker, H.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — [7] Mazzanti, O.: Ref. Dermat. Wschr. **2**, 949 (1936). — [8] Moore, B.: Brit. J. Ind. Med. **3**, 250 (1946). — [9] Tommasi, L.: Ref. Dermat. Wschr. **2**, 1169 (1936).

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., S. 505—508 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.

Die Drosselung der Glomeruli bei der Wasserdiurese*.

Von
E. Frey.

Mit 2 Textabbildungen.

(*Eingegangen am 17. Oktober 1950.*)

Die Niere besitzt eine Vasomotorik, die nach dem jeweiligen Funktionszustande des Organs verschieden ist: Stellt die Niere einen dem Blute gegenüber konzentrierten Harn her, so sind die Glomeruli gut blutgefüllt, dagegen zeigt sich ein verhältnismäßig schwach blutgefüllter Streifen der Markzone, dort, wo sie an die Rinde anstößt. Bei einer Niere, welche einen dem Blute gegenüber verdünnten Harn absondert, sind die Glomeruli wenig durchblutet, dafür aber diese Außenzone des Markes mit Blut gefüllt. E. und J. Frey[1] haben dies auf S. 104 schematisch dargestellt. Man kann die Gefäßzeichnung der Niere durch Injektion von Tusche von der Arterie aus erhalten oder auch durch Benzidinfärbung der Erythrozyten, also durch Darstellung des Gefäßinhaltes ohne Injektion einer Fremdsubstanz. Man erhält außerordentlich ähnliche Bilder, nur werden im letzteren Falle die Venen mitgefärbt, während durch Tusche von der Arterie aus meist nur die Arterien und Kapillaren erreicht werden. Aber die verschiedene Zeichnung des Gefäßsystems bei Einengung oder Verdünnung des Harnes erhält man immer in derselben Weise, wie aus vielen früheren Abbildungen hervorgeht. Die Tuschefüllung der Arterien ist in verschiedener Weise vorgenommen worden 1. durch Einschwemmen von Tusche in die linke Karotis, 2. durch Injektion in die Aorta von unten her unter digitalem Zudrücken der Aorta unterhalb des Zwerchfells, 3. durch direkte Injektion in die Nierenarterie.

Nun haben Höpker und Meesen[2] derartige Bilder als durch Störfaktoren bedingt aufgefaßt, die durch Manipulationen am Nierenstiel entstanden seien (Höpker[3] selbst hat den Nierenstiel unterbunden); sie übersehen dabei aber, daß viele Bilder von E. Frey[4, 5] durch Einschwemmen von Tusche von der linken Karotis aus, also weit weg von der Niere bei normalem Blutdruck gewonnen sind. Damit sich solche Vorstellungen nicht in die weitere Nierenliteratur übertragen, gebe ich noch 2 Abbildungen wieder, auf denen die Einstellung des Gefäßsystems der Niere nach Eingabe von Wasser in den Magen, also bei Absondern eines verdünnten Harnes zu sehen ist.

* Herrn Geh. Reg. Rat Professor Dr. Rost zum 80. Geburtstag gewidmet.

Bilder einer unbeeinflußten Niere sind ja überall zu finden, z. B. ein solches bei J. Frey[1] auf S. 82; noch stärkere Füllung der Glomeruli sieht man bei der Glomerulusdiurese (E. Frey[4], S. 137). Höpker und Meesen[2] haben ihre Untersuchungen bei der Salyrgandiurese, die tödlich verlief, und bei der Wasserdiurese angestellt und fassen diese zwei Vorgänge als Polyurie zusammen, obwohl seit 1906 (E. Frey[6]) bekannt ist, daß sie ganz verschieden sind; freilich haben auch andere Autoren nicht immer diesen Unterschied beachtet.

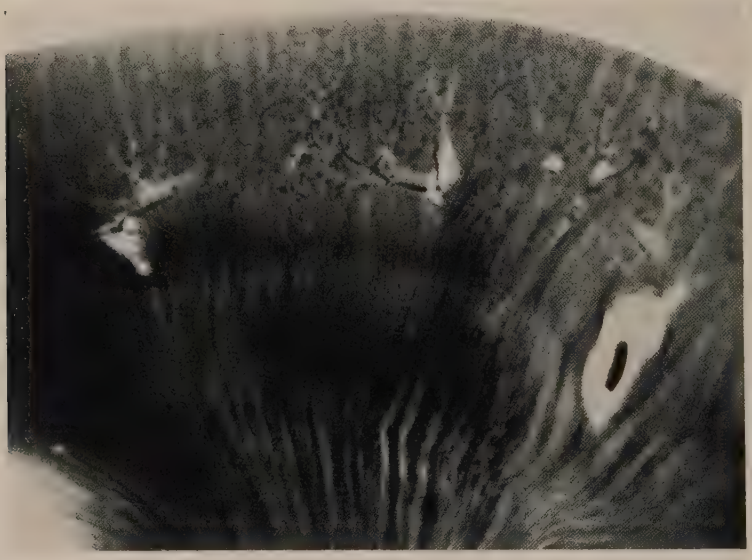


Abb. 1.

Hier gebe ich bei schwacher Vergrößerung das Bild einer Kaninchenniere in Wasserdiurese wieder: Kaninchen, 2500 g; 250 cm³ Wasser in den Magen; nach 2¾ Std 8 cm³ Tusche nach intravenöser Urethannarkose in die linke Karotis. Die Glomeruli erscheinen schlecht gefüllt, und zwar am schlechtesten die der äußeren Rinde. Sie sind nur als graue Flecke zu sehen. Dunkler sind die juxtamedullären Glomeruli.

Diesen Gegensatz haben Trueta u. Mitarb.[7] beschrieben und ihn so gedeutet, daß ein Abkürzungskreislauf bei hauptsächlicher Durchströmung der marknahen Glomeruli vorliegt. Zu der gleichen Ansicht kommen Kramer u. Mitarb.[8] bei der Messung zwischen den Wellen des Sauerstoffgehaltes in der Arterie, dem Kortex und der Vene. Diese Zeit beträgt für die Differenz zwischen Arterie und Kortex 3,6 ± 1,8 sec, für die zwischen Arterie und Vene 1,9 ± 0,25 sec; während die erste Zeitdifferenz stark wechselt, ist der Blutstrom des Markes konstanter.

Auch bei langsamer Einschwemmung von Kollargol in die linke Karotis zeigt sich die Drosselung der Glomeruli bei der Wasserdiurese deutlich, und zwar sind auch hier die marknahen Glomeruli dunkler als die der äußeren Rinde.

Beispiel: Kaninchen, 2000 g; 150 cm³ Wasser per os; nach 3 Std 2 cm³ 2%iges Novokain zur Lokalanästhesie am Halse; Freilegen der linken Karotis zur Kollargolinjektion (20 cm³ 10%). Harn I: $\Delta = -0{,}32°$; Harn II: $\Delta = -0{,}11°$.

Bei stärkerer Vergrößerung ist vielleicht diese Drosselung der Glomeruli noch deutlicher zu sehen (Abb. 2). Kaninchen 2800 g; 200 cm³ Wasser in den Magen; nach 3 Std in Evipannarkose 10 cm³ Tusche in die linke Karotis. Auch hier treten die Glomeruli nur noch als graue Flecke hervor, während die zuführenden Arterien gut gefüllt erscheinen.

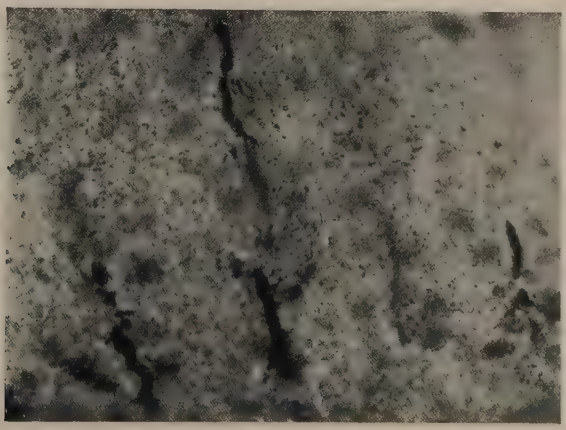


Abb. 2.

Außerordentlich auffällig ist der Gegensatz dieser Bilder zu denen einer unbeeinflußten Niere oder einer solchen in Glomerulusdiurese, wo die Glomeruli als tiefschwarze Flecke erscheinen.

Diese Umstellung des Gefäßbildes bei der Wasserdiurese kommt sicherlich durch Quellung der Zimmermannschen Polkissen an der Arteria afferens zustande. Nicht so klar liegen die Verhältnisse hinsichtlich des Weges, den das Blut nimmt. Spanner[9] und Clara[10] haben Anastomosen beschrieben und zwar solche zwischen Arteria und Vena terminalis (radiata), dicht an den Bogengefäßen. Uns[1] (S. 101ff.) war es nicht vergönnt, eine solche Anastomose mit unseren Tuschefüllungen zu finden; sie treten offenbar nur bei der Wasserdiurese in Erscheinung, also für gewöhnlich nicht (wir haben sie aber auch dort nicht gesehen), oder doch nur bei besonderer Technik. Wohl sprechen einige meiner Bilder für das Bestehen derartiger Anastomosen, wenn man eine Wasserdiurese anregt: Man sieht dann die Arterien der Rinde schmal, eng, die Glomeruli schlecht gefüllt, dagegen neben der Terminalarterie, mit ihr gleichlaufend, stark gefüllte Venen, die sich ins Kapillarnetz aufspalten.

Beispiel: Kaninchen, 2700 g — 150 cm³ Wasser per os; nach 2 Std Harn abgedrückt, $\Delta = -0{,}60°$. Dann 2,7 cm³ Pernocton; von unten nach Zudrücken der

Aorta unterhalb des Zwerchfells Injektion von 25 cm³ Tusche in die Aorta; Blasenharn: $\Delta = -0{,}16°$.

Jedenfalls kann kein Zweifel bestehen, daß es eine interrenale Vasomotorik gibt, die den Funktionszustand der Niere — Eindickung oder Verdünnung des Harnes — bedingt und daß bei der Wasserdiurese eine Drosselung der Glomeruli stattfindet.

Literatur.

[1] Frey, E. u. J.: Die Funktionen der gesunden und kranken Niere. Berlin-Heidelberg-Göttingen: Springer 1950. — [2] Höpker, W., u. H. Meesen: Ärztl. Forschg **1950**, 1. — [3] Höpker, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 257 (1950). — [4] Frey, E.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **177**, 134 (1935). — [5] Frey, E.: Arch. exper Path. u.. Pharmakol. **182**, 633 (1936). — [6] Frey, E.: Pflügers Arch. **121**, 71 (1906). — [7] Trueta, Barclay, Daniel, Franklin and Prichard: Studies of the renal circulation. Blackwell. Sci. Publ. Oxford 1947. — [8] Kramer, K., G. A. Sexton and D. E. Timons (Texas): Further evidence of a kidney shunt circulation. Internat. Physiologen-Kongreß in Kopenhagen. 15.—18. 8. 1950, S. 314. — [9] Spanner, R.: Klin. Wschr. **1937 II**, 1421. — Erg. Heft z. Anat. Anz. **85**, 1938 u. **87**, 320 (1939). — Erg. Heft z. Anat. Anz. **85**, 1938. — [10] Clara, M.: Erg. Anat. **27**, 1927. – Kleine histol. Mitt. Anat. **55**, 1922. — Z. mikrosk.-anat. Forschg. **40**, 147 (1936). — Arch. Kreislaufforschg **3**, 42 (1938).

Prof. Dr. Ernst Frey, Freiburg i. Br., Lugostr. 2.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 509—521 (1951).

Aus dem Robert-Koch-Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten, Berlin-Dahlem, Abt. Physiologie und Pharmakologie.

Über sogenanntes Oxydwachs*.

Von

GERHARD KÄRBER.

(Eingegangen am 5. Oktober 1950.)

Vom Äthylenglykol $HO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$ leitet sich eine Reihe kettenförmiger Verbindungen ab, dem Formelbild nach durch fortschreitende Ätherbildung entstanden. Man gelangt vom einfachen Äthylenglykol zu Di-, Tri-, Tetra- und höherem Polyäthylenglykol, mit zunehmender Länge der Kette von flüssigen zu pastenförmigen und schließlich zu festen Stoffen. Die allgemeine Formel ist $HO(CH_2 \cdot CH_2 \cdot O)_nH$ (QUADBECK[1]). Im Oxydwachs (Schkopau) erhielten wir 1947 einen festen Stoff aus der Polyäthylenglykolreihe. Bei seiner guten Wasserlöslichkeit ist die Bezeichnung Oxydwachs wenig glücklich. Der Stoff entsprach mit seinem Schmelzpunkt (57,5°) und auch sonst den Anforderungen des Erg. B. (Neudruck 1948) zum DAB. 6 an Postonal (Polyäthylenoxyd) und erwies sich damit als ein Parallelerzeugnis zu dieser seit vielen Jahren bekannten Zäpfchenmasse. Da die zusammenfassende Arbeit von MIDDENDORF[2] über Kunststoffe in pharmazeutischen und medizinischen Zubereitungen keine näheren pharmakologischen Angaben über Postonal enthielt, wurde Oxydwachs von uns näher untersucht.

Mit den von WURZSCHMITT[3] ausgearbeiteten Nachweisreaktionen für Polyäthylenglykole kann der Polymerisationsgrad dieser Stoffe der Größenordnung nach angegeben werden. Oxydwachs gab die Tanninprobe II, etwas schwächer die Tanninprobe I und reagierte positiv mit MAYERS Reagens. Außerdem waren positiv Tanninprobe III, Bromprobe II und Jodprobe I und II. Dies entspricht nach WURZSCHMITT einem Molekulargewicht von 810 (n = 18). Dies schließt nicht aus, daß Oxydwachs daneben niedere und höhere Polyäthylenglykole enthält.

I. „Schwimm"-Versuche am Frosch.

Um einen Überblick über die Wirkungen des Oxydwachses im Vergleich zu verschiedenen Glykolen** und einigen anderen Stoffen zu gewinnen, wurden an Fröschen „Schwimm"-Versuche durchgeführt. Sie gestatten bei genügend wasserlöslichen und nicht flüchtigen Stoffen in

* Herrn Geheimrat Prof. Dr. med. Dr. phil. h. c. EUGEN ROST (Heidelberg) zum 80. Geburtstag in Verehrung zugeeignet.

** Oxydwachs (A), die verwendeten Glykole sowie Hexantriol erhielten wir von den früheren *Chemischen Werken Buna* in Schkopau. Hierfür sei auch an dieser Stelle gedankt. 1,2- und 1,3-Propylenglykol standen damals nicht zur Verfügung.

fließendem Übergang akute und chronische Wirkungen in Abhängigkeit von Konzentration und Zeit bequem festzustellen.

Die Glykole usw. wurden nicht auf den genauen Siedepunkt (wiederholte Destillation) eingestellt, da es auf die vergleichende Feststellung der Toxizität dieser Lösungsmittel in guter Handelsqualität ankam. Verwendet wurden ♂ Oktober-Temporarien (20—45 g). 200 cm^3 der Lösungen (mit Leitungswasser) kamen, wöchentlich erneuert, in ein genügend weites Gefäß, so daß etwa $^1/_3$ der Körperoberfläche der Frösche aus der Flüssigkeit herausragte. Die Versuche wurden (Oktober 1947 bis Mai 1948) in kaum geheizten Räumen durchgeführt. Parallelversuche in der warmen Jahreszeit führten nicht immer zu vergleichbaren Ergebnissen. Kontrollversuche mit Leitungswasser konnten bis zu einem halben Jahr ausgedehnt werden. Das Körpergewicht sank dabei auf etwa 60% des Ausgangswertes. Maß für die Giftigkeit ist die Zeit bis zum Eintritt des Todes. Es war zu erwarten, daß im „Schwimm"-Versuch die für die meisten Glykole charakteristischen Nierenschädigungen ebenfalls auftreten. Die Bedingungen schienen hierfür günstig, da den Nieren über eine lange Zeit eine gleichbleibende Konzentration des Giftes angeboten wird. Bei 730 Prüfungen des abgedrückten Harns von ♂ Temporarien mit Sulfosalizylsäure sahen wir regellose Eiweißausscheidungen nur gelegentlich, so 5mal eine schwache Opaleszenz während eines 134tägigen Versuches mit 2,5%igem Äthylalkohol, 1mal vor dem Ende bei einem 180tägigen Kontrollversuch mit Leitungswasser, 1mal zu Beginn eines 37tägigen Versuchs mit 2,5%igem Triglykol, wobei später bis zum Tode die Eiweißprobe im Harn nicht wieder positiv wurde, 1mal bei einem 2tägigen Versuch mit 0,1%igem Benzylalkohol. Stärkerer Parasitenbefall mag stören, doch konnten hierüber keine abgeschlossenen Erfahrungen gesammelt werden. Demgegenüber zeigte sich bei nierenschädigenden Glykolkonzentrationen ein charakteristisches Verhalten, auf das bei den Ergebnissen noch näher eingegangen wird. Mit den geprüften Stoffen reagierte Sulfosalizylsäure nicht. Bei allen 730 Harnproben wurde auf Urobilinogen geprüft, stets mit negativem Ergebnis.

In 5—10%igen Oxydwachslösungen gingen Temporarien, namentlich in der wärmeren Jahreszeit, in 1—20 Tagen ein. Die Vergiftung war symptomarm. Die Tiere erschienen munter, wurden am nächsten Tag aber tot aufgefunden. Bei einem 19tägigen Versuch mit 5% Oxydwachs trat an den letzten 2 Tagen vor dem Tode eine leichte Trübung auf Zusatz von Sulfosalizylsäure zum abgedrückten Harn auf. Bei einigen Parallelversuchen mit einem festen Polyäthylenoxyd unbekannter Herkunft glich das Vergiftungsbild dem bei Oxydwachs; die Verträglichkeit schien aber etwas besser zu sein. 20%ige Polyäthylenoxyd-Lösungen führten in 3 Tagen zum Tode, 10%ige in 11 Tagen, wobei sich 1 Tag vor dem Tode ein komatöser Zustand entwickelte, in dem das Tier Rückenlage ertrug. In 5% Polyäthylenoxyd wurden 44 Tage überlebt, ohne daß eine Eiweißausscheidung auftrat. Die Versuche mit 5—20%igen Lösungen einiger Glykole zeigten nichts Neues. Die Versuche mit Konzentrationen von 2,5% abwärts brachten dagegen charakteristische Unterschiede. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die Angaben beziehen sich auf Einzelbefunde. Auch beim Vorliegen mehrerer gleichartiger Versuche wurde auf die Angabe von Mittelwerten verzichtet.

Tabelle 1. *„Schwimm"-Versuche an Temporarien.*

Konzentration in %	2,5	1,25	0,75	0,5	0,25
	† nach Tagen:				
Äthylenglykol	16_{11}	31_{21}	63_{14}	100_0	
Diäthylenglykol	18_{14}	96_{23}	127_2		
Triäthylenglykol	37_0 [1])	206_0			
Oxydwachs	196_0				
Leitungswasser	180_1				
Methylglykol	14_4	14_1	25_4	44_{16}	69_{50}
Äthylglykol	4_2	31_{25}	60_2	77_1	93_0
Butylglykol	$1^{2})$	$1^{2})$	1_0	1_0	3_0 [3])
Äthylpolyglykol	11_4	26_9	134_{31}		
1,3-Butylenglykol	60_{45}	94_{24}	74_0		
1,4-Butylenglykol	18_{14}	17_{11}	53_4	119_0	
Glyzerin	14_6	214_0			
Hexantriol	1_0	$1^{2})$	34_2	81_7	62_6
Äthylalkohol	$134^{4})$	128_0			
Benzylalkohol	1	1	1	1	1 [5])

Dargestellt ist die Zeit (in Tagen) bis zum Tode. Die tiefgestellten kleinen Zahlen bedeuten Dauer (in Tagen) der Eiweißausscheidung vor dem Tode.

[1]) 1 mal vorübergehend schwache Trübung; [2]) kein Harn erhalten; [3]) Butylglykol: 0,1% 21 (0) Tage; 0,05% 180 (0) Tage; [4]) vorübergehend 11 Tage leichte Opaleszenz; [5]) Benzylalkohol: 0,1% 2 (1) Tage; 0,05% 117 (0) Tage.

Oyxdwachs nimmt den anderen geprüften Stoffen gegenüber eine deutliche Sonderstellung ein. In 2,5%iger Oxydwachslösung trat der Tod erst nach 196 Tagen ein, womit aber bereits die physiologische Grenze der Versuchsdauer überschritten wird, wie sich aus dem Kontrollversuch mit Leitungswasser ergibt. Schon im Vergleich zu Äthylalkohol, bei dem in 2,5%iger Lösung der Tod in 134 Tagen auftrat, erweckt Oxydwachs den Eindruck einer sehr wenig wirksamen Substanz. Aus dem Vergleich mit den geprüften Glykolen sowie mit Glyzerin und Hexantriol wird ferner das auffallende Fehlen der Nierenschädigung bei der geprüften Oxydwachskonzentration (2,5%) deutlich. Der abgedrückte Harn zeigte bei 38 Prüfungen mit Sulfosalizylsäure nie eine Trübung. Demgegenüber machte sich bei den Glykolen die Nierenschädigung wie folgt geltend: Nach einer gewissen Versuchsdauer trat im abgedrückten Harn auf Zusatz von Sulfosalizylsäure zunächst eine leichte Opaleszenz auf, später leichte Trübung, stärkere Trübung, schließlich flockige Fällung. Im allgemeinen war aus dem Ausfall der Sulfosalizylsäureprobe ein Fortschreiten des Nierenschadens ablesbar. Meist wenige Tage nach dem Auftreten der ersten Opaleszenz entwickelte sich vor allem bei den Tieren in den konzentrierteren Lösungen von Äthylenglykol, 1,3-Butylenglykol und 1,4-Butylenglykol ein komatöser Zustand. Die Tiere ertrugen

zunächst Rückenlage, später wurden sie reflexlos. Der komatöse Zustand* trat zum Teil gleichzeitig mit der Eiweißausscheidung auf. Für die Reihe „Äthylenglykol, Di-, Triäthylenglykol, Oxydwachs" zeigt Tab. 1, daß mit zunehmender Länge der $(CH_2 \cdot CH_2 \cdot O)$-$_n$Kette nicht nur die Giftigkeit allgemein abnimmt, sondern auch die nierenschädigende Wirkung. Im übrigen kann selbst unter den erschwerten Bedingungen des „Schwimm"-Versuchs wohl für jedes Glykol eine Grenzkonzentration gefunden werden, die die Niere im Dauerversuch nicht mehr schädigt**. Für das Oxydwachs, als Endglied der genannten Reihe, war der Ursache der geringen Giftigkeit nachzugehen. Zunächst wurde die Frage der Resorption von Oxydwachs im Rattenversuch geprüft (Abschnitt II).

Daß der Stoff überhaupt resorbiert werden kann, ergibt sich aus den Versuchen mit 5—10%igen Lösungen. Die Resorption könnte aber gleichwohl schlecht sein. Diese Vermutung bestätigten einige orientierende Versuche. Aus 2 Froschhautsäckchen (Außenseite innen, Innenseite außen), die je 10 cm³ 5%ige Oxydwachslösung als Innenflüssigkeit enthielten, konnte nach $3^1/_2$ Std der Übertritt von Oxydwachs in die 200 cm³ Außenflüssigkeit (Leitungswasser) nicht nachgewiesen werden (Oxydwachsfällung mit Tannin, Grenze der Nachweisbarkeit 10—15 γ/cm³).

Da auf die übrigen Befunde der Tab. 1 später nicht zurückgekommen wird, sollen sie hier kurz besprochen werden. Die Äther des Äthylenglykols (Methyl-, Äthyl-, Butylglykol, Äthylpolyglykol) zeigten im „Schwimm"-Versuch eine größere Giftigkeit, Methylglykol auch eine stärker nierenschädigende Wirkung als Äthylenglykol. Mit zunehmender Länge der Kohlenstoffkette des Alkyl-Restes setzt sich aber die Eigenwirkung des Alkylrestes gegenüber dem Glykol immer mehr durch. Beim Butylglykol überwiegt im „Schwimm"-Versuch die narkotische Wirkung des Butylrestes so stark, daß in den Konzentrationen von 2,5—0,25% abwärts die Tiere innerhalb eines Tages eingehen, während bei 0,1 und 0,05% die Grenzkonzentration des Glykols zur Erzeugung einer Nierenschädigung bereits unterschritten ist. Vom Äthylpolyglykol war der Polymerisationsgrad nicht bekannt. Der Stoff gab aber eine positive Jodprobe II nach WURZSCHMITT[3], bei negativem Ausfall der übrigen Reaktionen. Es handelte sich also mit großer Wahrscheinlichkeit um den Äthyläther des Triäthylenglykols. Triäthylenglykol verhielt sich bei den WURZSCHMITTschen Reaktionen wie Äthylpolyglykol. Aus den Versuchen mit Äthylpolyglykol ergibt sich, daß die Tendenz zur Verringerung der Giftigkeit*** und zur Abnahme der nierenschädigenden Wirkung mit Verlängerung der $(CH_2 \cdot CH_2 \cdot O)$n-Kette anscheinend durch Veresterung mit einem Alkylrest durchbrochen werden kann. Die besonders von LOESER u. Mitarb.[4] hervorgehobene geringere Giftigkeit des 1,3-Butylenglykols gegenüber 1,4-Butylenglykol ergibt sich auch aus den „Schwimm"-Versuchen. Andererseits ist aber das Verhältnis von 1,3-Butylenglykol zum Glyzerin nicht eindeutig. Die genannten 3 Stoffe werden daher an einem größeren Tiermaterial im „Schwimm"-Versuch nochmals geprüft werden. Beim Methyl- und

* Er war bei Methyl-, Äthylglykol, Äthylpolyglykol und Hexantriol wenig ausgeprägt und fehlte bei Di-, Triäthylenglykol sowie bei Glyzerin in den geprüften Konzentrationen.

** Dies hat für die Dauereinatmung kleiner Glykolkonzentrationen Bedeutung, wie sie bei der Luftdesinfektion eine Rolle spielen.

*** In einigen orientierenden Versuchen von KLOTZSCHE wirkte Oxydwachs auf Bacterium coli nicht bakterizid.

Äthylglykol scheint beim Übergang von den höheren zu den niederen Konzentrationen eine Umkehr der Wirkungsstärke einzutreten. Während bei 2,5% Äthylglykol wirksamer ist, gilt dies bei 0,25% für Methylglykol. Hexantriol, ein dreiwertiger Alkohol, war giftiger als fast alle geprüften Glykole, ausgenommen Butylglykol. Als „Glyzerinersatz" kommt Hexantriol keinesfalls in Betracht. Von allen im „Schwimm"-Versuch geprüften Stoffen war Benzylalkohol am giftigsten. Seine neuerdings in Erwägung gezogene Verwendung bei der gewerblichen Lebensmittelherstellung muß als abwegig gelten.

II. Versuche an Ratten.

Die Toxizität von Oxydwachs wurde im Vergleich zu Äthylenglykol zunächst bei subkutaner, stochamaler und rektaler Zufuhr geprüft. Die rektale Zufuhr wurde mit Rücksicht auf die Verwendung von Oxydwachs als Zäpfchenmasse einbezogen.

Verwendet wurden weiße Ratten beiderlei Geschlechts von 60—150 g. Die rektale Zufuhr wurde im allgemeinen zwei- und dreizeitig im Abstand von 1 Std vorgenommen. Um das Zurücklaufen aus dem Darm zu verhindern, wurde der After mit einer gummiüberzogenen kleinen Klemme für 6 Std verschlossen. Die Ergebnisse mit Äthylenglykol sind in Tab. 2 zusammengestellt. 21 weitere dort nicht aufgeführte Versuche bestätigen die mitgeteilten Ergebnisse. Diese stehen in Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur (E. Gross[5]).

Tabelle 2. *Äthylenglykol.*

g/100 g (30% ig)	subkutan	g/100 g (70% ig)	stomachal	g/100 g (90% ig)	rektal
0,4	— —	0,8	— —	0,8	— —
0,5	— —	1,0	+ +	1,0	— —
0,6	+ +	1,2	+ +	1,2	+ +
0,7	+ +	1,4	+ +	1,4	+ +
DL_{50}	0,55 g/100 g		0,9 g/100 g		1,1 g/100 g

— bedeutet: überlebt; + bedeutet: tot.

Tabelle 3. *Oxydwachs.*

g/100 g (70% ig)	subkutan	g/100 g (50% ig* und 70% ig**)	stomachal	g/100 g (70% ig)	rektal
1,0	— —	1,5*	—	1,7	—
1,2	— —	22,4** [1])	—	11,2[3])	—
1,4	— —	25,0** [1])	—	16,2[1])	—
1,75	+ +	33,4* [2])	—	18,7[3])	—
2,0	+ +	36,5* [2])	—		
DL^{50}	1,6 g/100 g	—	—	—	—

— bedeutet: überlebt; + bedeutet: tot.
[1]) Verteilt auf 11 Tage; [2]) verteilt auf 17 Tage; [3]) verteilt auf 8 Tage.

Die Ergebnisse mit Oxydwachs zeigt Tab. 3. Dort nicht berücksichtigte 18 weitere Versuche bestätigen die Ergebnisse bei subkutaner Zufuhr. Bei der ausbleibenden Wirkung des Oxydwachses bei stomachaler und rektaler Zufuhr wurden

die Versuche zum Teil über 8—17 Tage ausgedehnt. Die Zufuhr erfolgte dabei täglich 3—4mal im Abstand von 1—2 Std, da es sonst gar nicht möglich gewesen wäre, den Tieren so beträchtliche Mengen Oxydwachs zuzuführen. Die verwendete 70%ige Oxydwachslösung mußte angewärmt appliziert werden, da sie bei Zimmertemperatur teilweise ausfiel.

Wider Erwarten war DL_{50} für Oxydwachs bei subkutaner Zufuhr mit 1,6 g/100 g* nur rund 3mal so groß wie beim Äthylenglykol (0,55 g/100 g). Das Vergiftungsbild ähnelte dem beim Äthylenglykol. Die Tiere wurden bei sicher tödlichen Gaben (1,75 g/100 g) bewegungsarm, fraßen nicht mehr, ertrugen Seitenlagen und wurden in ausgeprägten Fällen reflexlos. Die Atmung war verflacht und verlangsamt. Das Bild einer fortschreitenden zentralen Lähmung stand somit im Vordergrund. Schädigungen von Nieren und Leber traten im Gegensatz zum Äthylenglykol ganz zurück. Zwei nach 2 g Oxydwachs/100 g subkutan innerhalb von 24 Std eingegangene Ratten zeigten an Nieren und Leber histologisch keine pathologischen Veränderungen. Unmöglich war es, Ratten durch stomachale und rektale Oxydwachsgaben zu töten oder erkennbare Vergiftungserscheinungen bei ihnen zu erzeugen. Oxydwachs wurde bis zu 36,5% des Körpergewichts (verteilt auf 17 Tage bei täglich 4maliger Zufuhr) vertragen. Die Tiere zeigten lediglich diarrhoische Erscheinungen, die aber trotz weiterer Oxydwachszufuhr zurückgingen. Der breiige Kot dürfte durch Wasserbindung des Oxydwachses zu erklären sein, das den Darm zu einem beträchtlichen Teil unresorbiert passiert. Orientierende Fällungen von Kotauszügen mit Tannin zeigten bei den Oxydwachs-Tieren einen ungleich stärkeren Effekt als bei Kontrollen. Nach Beendigung der Oxydwachszufuhr stieg das offenbar durch die diarrhoischen Erscheinungen vorübergehend etwas abgefallene Körpergewicht recht gut wieder an, was während einer 79tägigen Nachbeobachtung fortlaufend beobachtet wurde. Rektal wurde Oxydwachs über 8 Tage verteilt bis zu 18,7% des Körpergewichts bei täglich 3maliger Zufuhr ohne Vergiftungserscheinungen vertragen. Auch bei diesem Versuch stieg das Körpergewicht während einer 79tägigen Nachbeobachtung befriedigend an. Keineswegs völlig ungiftig bei subkutaner Zufuhr, aber ungiftig im akuten Versuch bei stomachaler und rektaler Zufuhr, läßt Oxydwachs somit auch in einem etwas länger dauernden Versuch (bis 17 Tage) bei den gleichen Applikationsweisen eine wesentliche Wirkung vermissen. Das Verständnis hierfür war in der zu geringen Resorption zu suchen (Abschnitt III).

Die Resorption von Oxydwachs nach subkutaner Injektion bei Ratten erfolgte langsam. Öffnet man bei den toten Tieren die Injektionsstellen, so findet man noch gallertige Rückstände. Die daraus gewonnene Flüssigkeit gibt mit Tannin eine kräftige Fällung. Es wurde versucht, durch subkutane Injektion gleichzeitig an

* Bei dem erwähnten festen Polyäthylenoxyd unbekannter Herkunft wirkte 2 g/100 g subkutan tödlich.

4 Stellen, ferner durch Zugabe von Hyaluronidase (Kinetin Schering) die Abflußwege aus dem subkutanen Depot besser zu öffnen. Es gelang auf diese Weise, die DL_{50} für Oxydwachs bei subkutaner Injektion an Ratten (1,6 g/100 g) herabzudrücken. 1,2 g/100 g wurden zwar bei Injektion an 4 Stellen ohne und mit Zugabe von 1,25 Schering-Einheiten Kinetin je Injektionsstelle noch überlebt. Bei 1,4 g/100 g trat aber in der überwiegenden Zahl der Versuche der Tod ein, also bei einer Dosierung, die sonst überlebt wurde. Die geöffneten Injektionsstellen zeigten keine Reste der subkutanen Depots. Um den Resorptionsfaktor auszuschalten, wurde Oxydwachs bei intravenöser Injektion im Vergleich zu Äthylenglykol geprüft. Die Ergebnisse zeigt Tab. 4.

Tabelle 4.

Oxydwachs	1,2 — —	— — 0,4	*Äthylenglykol*
g/100 g	1,4 + +	— — 0,5	g/100 g
70%ig	1,6 + +	+ + 0,6	30%ig
intravenös			intravenös
DL_{50}	1,3 g/100 g	0,55 g/100 g	

— bedeutet: überlebt; + bedeutet: tot.

Bei intravenöser Injektion ist die DL_{50} für Oxydwachs (1,3 g/100 g) nur noch etwa doppelt so groß wie bei Äthylenglykol (0,55 g/100 g). Die DL_{50} war für Äthylenglykol bei subkutaner und intravenöser Injektion gleich groß, was den Angaben der Literatur auch ungefähr entspricht[5]. Bei Oxydwachs gingen die Tiere innerhalb 15—30 min akut ein. Es bestand der Eindruck, daß die starke Viskosität der Injektionslösung bei dem raschen Eingehen der Tiere mitspielt. Der Vergleich der Giftigkeit Oxydwachs und Äthylenglykol wird also durch einen neuen Faktor gestört.

III. Bestimmung von Oxydwachs in Kot und Harn.

Oxydwachs wird durch Tannin, nicht aber durch Bleizucker gefällt (Reichert[6]; Wankmüller[7]). Nach erschöpfender Fällung mit Bleizucker und sorgfältiger Entfernung des überschüssigen Bleis mit Schwefelwasserstoff bleibt nach unseren Versuchen in wäßrigen Auszügen aus Rattenkot kein mit Tannin fällbarer Stoff zurück. Oxydwachs läßt sich dann im Kot mit Tannin leicht nachweisen und der Gehalt durch Vergleich mit den nach Tanninzusatz in Oxydwachs-Testlösungen auftretenden Trübungen bequem schätzen. Die untere Grenze hierfür liegt bei etwa 20—25 γ/cm^3. Nach einigem Tasten hat sich uns für die Oxydwachsbestimmungen in Rattenkot folgendes Verfahren* als brauchbar erwiesen:

Der 24-Std-Kot (1,2—3,9 g) wird mit 50 cm^3 destilliertem Wasser auf dem siedenden Wasserbad 10 min erhitzt und das Ganze unter Nachspülen mit destilliertem Wasser filtriert. Das Filtrat wird unter Umschütteln mit 5—10 cm^3

* Shaffer, Critchfield u. Carpenter[9] benutzten zur Bestimmung von Polyäthylenglykolen ein gravimetrisches Verfahren nach Fällung mit Kieselwolframsäure in saurer Lösung und Gegenwart von Bariumsalzen. Wurzschmitt[3] hat die Veröffentlichung eines neuartigen Verfahrens zur Bestimmung von Polyglykolen und Polyäthylenoxydanlagerungsprodukten in Aussicht gestellt.

25%iger Bleizuckerlösung versetzt und der Niederschlag unter Nachspülen mit destilliertem Wasser abfiltriert. Das Filtrat wird durch Einleiten von H_2S von überschüssigem Blei befreit, das bleifreie Filtrat (nach Enfternen des restlichen H_2S durch Erhitzen) mit destilliertem Wasser auf 100 cm³ aufgefüllt und weiter, z. B. 1 : 50, verdünnt. Hiervon wird 1 cm³ in ein geeignetes kleines Reagensröhrchen pipettiert und die gleiche Menge frisch bereitete 5%ige Tanninlösung zugegeben. Die entstehende Trübung wird mit einer Trübungs-Skala verglichen, die man sich aus Oxydwachs-Testlösungen zwischen 0,002% und 0,01% in passenden Abstufungen herstellt. Zum Sammeln des Kotes werden die Ratten für 24 bzw. 48 Std in Einzelkäfigen ohne Streu auf Drahtnetzen gehalten. Als Futter wird für diese Zeit nur Brot neben Wasser gegeben. Dem Rattenkot zugesetztes Oxydwachs konnte in befriedigender Weise wiedergefunden werden. Oxydwachs, das an Tierkohle gut adsorbierbar ist, wird von dem Bleizuckerniederschlag nicht in störender Weise mitgerissen.

Tabelle 5. *Rattenversuche.*

Von 500 mg stomachal zugeführtem Oxydwachs wurden wiedergefunden in den	
ersten 24 Std %	zweiten 24 Std %
62,5	0
50,0	7,5
62,5	5,0
50,0	10,0
62,5	2,5
50,0	7,5
62,5	3,1
50,0	10,0
37,5	15,0
50,0	3,75
62,5	2,5
75,0	1,25
Mittelwerte	
56,3	5,7

Die nach stomachaler Zufuhr von 500 mg Oxydwachs (1 cm³ 50%ige Lösung mit der Metallsonde) bei 150—180 g schweren Ratten im 48 Std-Kot gefundenen Mengen Oxydwachs zeigt Tab. 5.

Die Gesamtausscheidung in den ersten 48 Std betrug fast zwei Drittel der aufgenommenen Menge. Oxydwachs wird demnach schlecht resorbiert. Immerhin wird etwa ein Drittel im Kot nicht wiedergefunden, so daß eine partielle Resorption wahrscheinlich ist. Es wurde daher geprüft, ob Oxydwachs im Harn ausgeschieden wird.

Die Oxydwachsbestimmung im Harn erfolgte in gleicher Weise wie bei Rattenkot. Die Bleizuckerfällung wurde beibehalten. Für sie wurden jedoch nur 2—5 cm³ der 25%igen Lösung verwendet. Wegen der geringen Oxydwachsmengen im Harn wurde der Rattenharn (wenige cm³) auf höchstens 10 cm³ mit Aqua dest. aufgefüllt und für die Trübungsmessung, wenn überhaupt, 1 : 5 verdünnt. Bei der starken Oxydwachsausscheidung im Kot machte jede Verunreinigung mit Kot die weitere Verwendung des Harns unmöglich. Es wurde daher darauf verzichtet, den 24 Std-Harn quantitativ zu sammeln. Verwendet wurde die Harnmenge, die die Ratten bei wiederholtem „Abhalten" über einer PETRI-Schale spontan entleerten (0,5—4 cm³). Bei der Schwierigkeit, größere Mengen Rattenurin rasch zu gewinnen, wurde für die Prüfung des Verfahrens Menschenharn verwendet. Das zugesetzte Oxydwachs konnte in befriedigender Weise wiedergefunden werden.

Die nach stomachaler Zufuhr von 500 mg Oxydwachs (1 cm³ 50%ige Oxydwachslösung mit der Metallsonde) bei Ratten im Harn gefundenen Oxydwachsmengen zeigt Tab. 6. Das Sammeln des Harns erfolgte aus äußeren Gründen nur bis 5 Std nach Oxydwachsaufnahme. Stichprobenweise wurde aber festgestellt, daß 24 Std nach Oxydwachsaufnahme im Harn der Ratten Oxydwachs nicht mehr feststellbar war.

Wenn sich die Angaben in Tab. 6 auch nicht auf die Gesamtmenge des in 24 Std ausgeschiedenen Harns bezieht, wird deutlich, daß von den aufgenommenen 500 mg Oxydwachs nur ein geringfügiger Teil, schätzungsweise etwa 1 % im Harn der Ratte erscheint. Da der Nachweis des Oxydwachses im Harn als Beweis für die im Darm erfolgte Resorption dienen soll, schien es notwendig, den Befund noch weiter zu sichern.

Tabelle 6. *Rattenversuch.*

Von 500 mg stomachal zugeführtem Oxydwachs wurden wiedergefunden:		
in cm³ Harn	mg	%
6*	7,5*	1,5*
3,5	1,25	0,25
2,0	0,75	0,15
1,5	0**	—
2,8	0,62	0,12
4	1,0	0,2
2,5	0**	—

* Mischharn von 2 Tieren. ** Tanninniederschlag in Lösung gegangen.

In einem Selbstversuch wurden abends 22,30 Uhr 10 g Oxydwachs in 250 cm³ Leitungswasser gelöst eingenommen und 250 cm³ Wasser nachgetrunken. Es bestand für etwa 1 Std leichte Übelkeit. Die im Harn wiedergefundene Menge Oxydwachs ergibt sich aus Tab. 7. Vor Aufnahme des Oxydwachses gab der eigene Harn im Analysengang keine Trübung mit Tannin, selbst wenn die 5fache Harnmenge verwendet wurde als sonst bei der Oxydwachsbestimmung im Harn. Während des Versuchs war im Harn die Sulfosalizylsäureprobe stets negativ. Diarrhoische Erscheinungen traten bei der gewählten Versuchsmenge nicht auf, eher das Gegenteil, da der erste Stuhlgang 36 Std nach der Oxydwachsaufnahme erfolgte.

Tabelle 7.

Von 10 g im Selbstversuch 22,30 Uhr per os aufgenommenem Oxydwachs wurden wiedergefunden:		
in cm³ Harn	mg	%
I. 240 cm³ (Nachtharn)	23 28,8 26,9 28,8	0,27
II. 425 cm³ (Morgenharn)* 6,40 Uhr	53,1 53,1 56,7 63,8	0,57
III. 210 cm³ (Vormittagsharn) 12,00 Uhr	0 ** 0 0 0	0
Insgesamt:	83,6 mg	0,84%

* Eine weitere kleine Probe Morgenharn konnte aus äußeren Gründen nicht gesammelt und untersucht werden.

** Keine Trübung auch bei Verwendung der 5fachen Harnmenge.

In einem 2. Selbstversuch (10 g Oxydwachs) betrug die Ausscheidung nur 29,5 mg (= 0,3%). Die Ausscheidung war nach etwa 8 Std im wesentlichen beendet, soweit dies mit der verwendeten Oxydwachsbestimmung geprüft werden konnte. Die Selbstversuche bestätigten somit die Ergebnisse des Rattenversuchs. Ein Teil des stomachal aufgenommenen Oxydwachses wird im Darm resorbiert.

Aus den Harnportionen I und II des 1. Selbstversuchs wurde nach Abfiltrieren des Bleizuckerniederschlags durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform 130 mg einer braunen, schmierigen nach zersetztem Urin riechenden Substanz gewonnen. Nach Lösen in heißem Alkohol und Abfiltrieren des Unlöslichen wurde eine kleine Menge einer hellbraunen wachsartigen Substanz gewonnen, die etwa ab 61° schmolz. Diese Substanz war aber nicht einheitlich, da sie sich nur unvollständig in etwas heißem Wasser löste. Der im Wasser lösliche Anteil gab auf Zusatz von 1 Tropfen einer frisch bereiteten Tanninlösung eine kräftige hellgelbliche Fällung.

Der langsamen Resorption des Oxydwachses aus dem subkutanen Depot entsprach eine sich über 3 Tage hinziehende Ausscheidung im Harn. Einen solchen Versuch zeigt Tab. 8. Gesammelt und untersucht wurde der Harn jeweils nur 6 Std tagsüber.

Tabelle 8.

Von 1,4* g/100 g subkutan injiziertem Oxydwachs wurden im Harn wiedergefunden:			
	am 1. Tag	2. Tag	3. Tag
bei Ratte I (85 g)	150 mg	62,5 mg	2 mg
bei Ratte II (89 g)	130 mg	37,5 mg	0,5 mg

* in 50%iger Lösung.

Der in unseren Versuchen im Rattenharn ausgeschiedene Stoff wurde mit den WURZSCHMITTschen Nachweisreaktionen als Polyäthylenglykol (Mol 810) identifiziert. Nach subkutaner Zufuhr von Oxydwachs gab der Rattenharn nach Bleizuckerfällung und Entbleiung positive Reaktionen mit den Tanninproben I—III, der Bromprobe II, den Jodproben I und II sowie MAYERS Reagens. Keine dieser Proben war im Vergleichsharn positiv.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Das sowohl in Wasser als auch in Chloroform gut lösliche Oxydwachs erwies sich im „Schwimm"-Versuch am Frosch (bis 196 Tage) und nach stomachaler und rektaler Zufuhr im akuten und chronischen Versuch an der Ratte als ein praktisch ungiftiger Stoff. Im Selbstversuch führte die Einnahme von 10 g Oxydwachs* zusammen mit 500 cm^3 Wasser (= 2%ige Lösung) wohl infolge lokaler Reizung der Magenschleimhaut zu kurzdauernder Übelkeit. Dagegen wurde in nicht näher beschriebenen Selbstversuchen Oxydwachs von der Rektalschleimhaut (Suppositorien)

* Die zugeführten 10 g Oxydwachs würden 50—100 Pillen mit Oxydwachs als Grundlage entsprechen.

sowie von der äußeren Haut reaktionslos vertragen. Die im Tierversuch beobachtete Ungiftigkeit (stomachal und rektal) steht in Übereinstimmung mit der älteren Angabe von E. Gross[5], daß mit Zunahme der Molekulargröße — gemeint waren Diglykol und Tetraglykol — die Giftigkeit der Polyglykole abnimmt. Polyäthylenglykolen mit einem Molekulargewicht über 282 (n = 6) spricht Quadbeck[1] auf Grund neuerer Versuche eine große Verträglichkeit zu. Mit der Abnahme der Giftigkeit bei zunehmender Länge der $(CH_2 \cdot CH_2 \cdot O)_n$-Kette geht nach unseren Versuchen — am Beispiel Oxydwachs geprüft — eine Abnahme der Permeierfähigkeit einher, so daß Oxydwachs im Magen-Darmkanal nur schwer resorbiert wird. Das ist der Hauptgrund für die gute Verträglichkeit des Oxydwachses (stomachal und rektal). Daneben konnte aber sowohl bei subkutaner als auch bei intravenöser Injektion eine echte Abnahme der Giftigkeit gegenüber Äthylenglykol festgestellt werden. Die DL_{50} steigt allerdings nur auf etwa das 2—3fache (Äthylenglykol: DL_{50} subkutan und intravenös 0,55 g/100 g; Oxydwachs: DL_{50} subkutan 1,6 g/100 g, intravenös 1,3 g/100 g). Damit wird die gute Verträglichkeit des gesundheitlich am günstigsten zu beurteilenden einfachen Glykols, des 1,2-Propylenglykols, etwa erreicht (zu vgl. älteres Schrifttum bei E. Gross[5]). Bei subkutaner Injektion tödlicher Oxydwachsgaben erinnert das Vergiftungsbild mit der fortschreitenden zentralen Lähmung an die Vergiftung mit Äthylenglykol, nur fehlt die Nierenschädigung. Nach tödlichen subkutanen Oxydwachsgaben konnten bei Ratten histologisch pathologische Veränderungen der Nieren und der Leber nicht gefunden werden. Auch im chronischen „Schwimm"-Versuch am Frosch wurden Nierenschädigungen vermißt. Bei der intravenösen Injektion tödlicher Oxydwachsgaben gingen die Tiere innerhalb 15 bis 30 min ein. Dabei dürfte die starke Viskosität der Oxydwachslösung mitspielen. Die Resorption nach subkutaner Zufuhr ist gut, wenn auch verhältnismäßig langsam. Durch Verbesserung der Resorptionsbedingungen (Injektion an 4 Stellen, Zugabe von Hyaluronidase Kinetin [Schering]) konnte die tödliche Gabe deutlich gesenkt werden. Nach stomachaler Zufuhr erschien bei Ratten und im Selbstversuch weniger als 1% Oxydwachs im Harn. Bei Ratten wurden innerhalb 48 Std 62% mit dem Kot wieder ausgeschieden. Die Ausscheidung im Harn war beim Menschen in etwa 6—8 Std beendet, bei Ratten in weniger als 24 Std. Aus der Tatsache, daß die Ausscheidungsdauer im Harn hinter der Verweildauer im Magen-Darmkanal beträchtlich zurückbleibt, ergibt sich, daß eine Resorption des Oxydwachses nur im oberen Abschnitt des Magen-Darmkanals erfolgt. Die Resorption vom Rektum aus wurde von uns nicht gesondert geprüft. Nach subkutaner Oxydwachsinjektion bei Ratten erfolgte eine sehr reichliche Ausscheidung im Harn. Sie zog sich aber über 3 Tage hin. Der ausgeschiedene Stoff konnte mit Hilfe der

Wurzschmittschen Nachweisreaktionen als Polyäthylenglykol (Mol 810) identifiziert werden.

Die Polyglykole zeichnen sich nach Wurzschmitt[3] durch große Reaktionsfreudigkeit aus. Sie beruht auf dem Übergang dieser Stoffe in Polyoxoniumverbindungen. Ob diese im Organismus für das nach subkutaner Injektion von Oxydwachs auftretende Vergiftungsbild eine Rolle spielen, muß offen bleiben. Dagegen kann aus unseren Versuchen (Ausscheidung von Oxydwachs nach stomachaler Zufuhr zu 62% im Kot und nur unter 1% im Harn) auf einen Abbau im Organismus geschlossen werden. Über den Mechanismus dieses Abbaues und die dabei auftretenden Stoffe kann allerdings nichts ausgesagt werden.

Auf Grund früherer Versuche Schaumanns im Pharmakologischen Laboratorium der *Farbwerke Hoechst* gibt Middendorf[8] für Postonal neuerdings an, daß ein Abbau zu physiologisch bedenklichen Körpern, etwa zu Tri-, Di- oder Monoglykol, auch außerhalb des Magen-Darmkanals, vor allem in der Leber, nicht stattfindet. Bei diesen Versuchen wurden Ratten und Hunden Postonal chronisch per os zugeführt. Harnuntersuchungen, Blutbilder, die histologische Untersuchung von Nieren und Leber usw. ergaben keinen pathologischen Befund. Anlaß für diese Untersuchungen, die die praktische Ungiftigkeit des Postonals nachwiesen, war die Tatsache, daß Postonal beim Menschen in gewissem Umfang durch die Rektalschleimhaut resorbiert werden kann. Shaffer, Critchfield u. Carpenter[9] geben für Polyäthylenglykol vom mittleren Molekulargewicht 400 und 1000 nach intravenöser Injektion einen teilweisen Abbau im Organismus an. Diese sowie einige vorangehende Arbeiten[10, 11, 12, 13] beschäftigen sich mit Polyäthylenglykol (Mol 400) und einigen höher molekularen, unter der Bezeichnung Carbowax in USA im Handel befindlichen Polyäthylenglykolen (Mol 1000, 1540, 4000 und 6000). Alle diese Stoffe erwiesen sich als wenig giftig. Die Resorption vom Magen-Darmkanal aus war unbedeutend. Vom subkutanen Depot erfolgte sie langsam. Nach intravenöser Injektion setzte eine rasche und bei den höher molekularen Stoffen quantitative Ausscheidung im Harn ein. Diesen Ergebnissen ordnen sich unsere Befunde mit Oxydwachs gut ein. Nach den genannten amerikanischen Untersuchungen befinden sich die intravenös injizierten Polyäthylenglykole in der extrazellulären Flüssigkeit des Organismus. Die Ausscheidung erfolgt durch Glomerulusfiltration ohne Beteiligung der Tubuli. Höher molekulare Polyäthylenglykole wurden daher zur Bestimmung der Clearance mit positivem Erfolg herangezogen[9]. Ihrer praktischen Verwendung stehen aber die Unzulänglichkeiten der quantitativen Bestimmung entgegen.

Nach unseren Befunden mit Oxydwachs sind gesundheitliche Bedenken gegen die Verwendung dieses Stoffes zu Salbengrundlagen für die äußere Haut sowie als Suppositorien- und Pillengrundmasse nicht zu erheben. Nach den klinischen Ergebnissen von Fleischmann[14] mit einem salbenartigen Gemisch aus „Polymerisations- und Kondensationsprodukten des Äthylenoxyds" dürfte wegen verschiedener Eigenheiten solcher Salbengrundlagen (hohe Hydrophilie, verfestigende Epidermiswirkung usw.) der Verwendung von Oxydwachs auf der äußeren Haut verhältnismäßig enge Grenzen gezogen sein. Die große Reaktionsfreudigkeit der Polyglykole ist für alle Anwendungsgebiete (Salbe, Suppositorien, Pillen) zu beachten. Oxydwachs kann somit nicht als universell verwendbar gelten. Seine Brauchbarkeit bedarf in vielen Fällen der Prüfung. Für die Vehikelwirkung niedermolekularer Glykole und

Glykolderivate (Scholz[15], Quadbeck[16]) sieht Wurzschmitt[3] die Bildung von Oxoniumverbindungen als wahrscheinliche Ursache an. Für Oxydwachs ist eine solche Vehikelwirkung ebenfalls in Betracht zu ziehen. Sie dürfte aber durch die geringe Resorbierbarkeit des Oxydwachses begrenzt bleiben. Ohne daß näher darauf eingegangen werden kann, muß abschließend erwähnt werden, daß in anderer Hand* befindliche Patentansprüche die Verwendung des Oxydwachses berühren.

Die Versuche wurden zusammen mit Frl. Ursula Schirrmeister durchgeführt.

Zusammenfassung.

Oxydwachs, ein festes Polyäthylenglykol mit dem wahrscheinlichen Molekulargewicht 810 erwies sich im „Schwimm"-Versuch am Frosch und im Rattenversuch als praktisch ungiftig. Die Resorption aus dem Magen-Darmkanal ist gering. Resorbiertes Oxydwachs wird im Organismus zum Teil abgebaut, zum Teil mit dem Harn wieder ausgeschieden. Nierenschädigungen fehlen. Gesundheitliche Einwände gegen die Verwendung von Oxydwachs als Salbengrundlage sowie als Suppositorien- und Pillengrundmasse sind nicht zu erheben.

Literatur.

[1] Quadbeck, G.: Klin. Wschr. **1949**, 449. — [2] Middendorf, L.: Medizin u Chemie **IV**, 573 (1942). — [3] Wurzschmitt, B.: Z. anal. Chem. **130**, 105 (1950). — [4] Kopf, R., A. Loeser u. G. Meyer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 346 (1950). — [5] Gross, E., in Lehmann u. Flury: Toxikol. u. Hyg. d. techn. Lösungsmittel 1938. — [6] Reichert: Dtsch. Apoth.-Ztg. **56**, 234 (1941). — [7] Wankmüller, A.: Pharm. Zhalle **88**, 308 (1949). — [8] Middendorf, L.: Süddtsch. Apoth.-Ztg. **1949**, 355. — [9] Shaffer, Critchfield u. Carpenter: Amer. J. Physiol. **152**, 93 (1948). — [10] Smyth, Carpenter, Shaffer, Seaton u. Fischer: J. Ind. Hyg. Toxicol. **24**, 281 (1942). — [11] Smyth, Carpenter u. Shaffer: J. Amer. Pharm. Assoc. ,Sci. Ed. **34**, 172 (1945). — [12] Shaffer u. Critchfield: J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed. **36**, 152 (1947). — [13] Smyth, Carpenter u. Shaffer: J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed. **36**, 157 (1947). — [14] Fleischmann: Dermat. Wschr. **1943**, Nr. 23/24. — [15] Scholz, J.: Arch. d. Pharm. **277**, 145 (1939). — [16] Quadbeck, G.: Seifen — Öle — Fette — Wachse **75**, 227 (1949).

* Farbwerke Hoechst.

Prof. Dr. Gerhard Kärber, Berlin-Dahlem, Unter den Eichen 82—84.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 522—528 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen
(Direktor: Professor Dr. L. Lendle).

Chronaxiemetrische Untersuchungen am isolierten Ventrikel des Frosches über die Wirkung von Saponinen.

Von
Günther Wendhut.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 20. Oktober 1950.)

Digitalissubstanzen und Saponine gehören zu der Gruppe der Glykoside, die eine stark oberflächenaktive Wirkung besitzen. Die besondere Herzspezifität der Digitalisgruppe wird dem Laktonring am Steroidgerüst der Genine zugeschrieben. Dieser Laktonring fehlt den Saponinmolekülen. Außerdem gibt es eine Gruppe von Saponinen, deren chemische Struktur kein Steroidgerüst aufweist, die Triterpene. Nur die Saponine der Cholangruppe sind also durch ihr Steroidgerüst den Digitaliskörpern ähnlich. Aber alle haben infolge ihrer Oberflächenaktivität eine Wirkung auf die Zellmembranen. Für Digitalisstoffe ist meist eine permeabilitätsvermindernde Wirkung nachgewiesen worden, während für die Saponine vielfach eine Permeabilitätssteigerung angenommen wurde. In einer neueren Arbeit konnte Oelssner[1] ebenfalls für die Saponine am Froschherzen eine Permeabilitätsverminderung an einer verminderten Farbstoffaufnahme nachweisen.

Daß Saponine den Herzmuskel in ähnlicher Weise wie die Digitalissubstanzen beeinflussen können, ist wiederholt angegeben worden. Auf die Ähnlichkeit und Unterschiede in ihrer Wirkung im Vergleich zu der der Digitalisglykoside soll hier nicht näher eingegangen werden (Kobert[2], Kofler[3], Trendelenburg[4], Kakowski[5], Weinberg[6], Ransom[7], Karaulow[8], von Weizsäcker[9], Vollheim[10] und Müller[11]). Saponine besitzen auch eine systolische Wirkung, jedoch mit einer geringeren therapeutischen Breite als die Digitalissubstanzen. Als besonders bemerkenswert kann man noch die Angabe herausheben, daß sich der Herzmuskel unter einer Saponineinwirkung spontan erholen kann (Vollheim[5] und v. Blumencron[12]), was auch wir in unseren Versuchen wiederholt beobachten konnten.

In der Literatur liegen bislang über Untersuchung der Erregbarkeitsverhältnisse des Herzmuskels unter Saponinen noch keine Berichte vor. Somit schien uns ein Vergleich mit den Digitalissubstanzen erwünscht. Da wir mit der Chronaxie gleichzeitig ein Maß für die Geschwindigkeit der Erregungsausbreitung haben, konnten wir auch Aussagen über die Veränderung dieser Eigenschaft des Herzmuskels unter dem Einfluß von Saponinen machen.

In einer vorausgegangenen Arbeit habe ich gezeigt[13], daß Digitalis in therapeutischen Dosierungsbereichen die Chronaxie eher verkürzt als verlängert, und daß erst in toxischen Bereichen unter dem Einsetzen von Kontrakturen eine Verlängerung der Chronaxie meßbar wird, was gleichzeitig auch einer verzögerten Erregungsausbreitung entspricht.

Methode.

Eine genaue Beschreibung der Methodik der Untersuchungen ist in der ersten Mitteilung über den Einfluß von Digitalis auf die Chronaxie des Herzens gegeben. Auf die besonderen Fehlermöglichkeiten ist dort schon hingewiesen worden.

Es wurden 3 verschiedene Saponine untersucht, von denen 2 der Cholangruppe angehören, Digitonin und Solanin, während das dritte, das Saponium puriss. albiss. Merck, zu der Triterpengruppe gehört.

Jede Substanz wurde an ungeschädigten Herzen und nach Schädigung durch Kalziummangel geprüft. Benutzt wurde Rana Esculenta in den Monaten April bis Juli 1950.

I. Erregbarkeitsmessungen an ungeschädigten Ventrikeln.

Nachdem in einer normalen Vorperiode die Rheobasen und Chronaxiewerte ermittelt waren, wurden abgemessene Mengen der Saponinsubstanzen in die Straubkanüle gegeben, bis eine Kontraktur erzielt war. Eine therapeutische Wirkung konnte in den meisten Versuchen nicht gesehen werden; nur in einigen Versuchen, in denen der Ventrikel durch eine längere Versuchsdauer schon etwas geschädigt war, trat eine therapeutische Wirkung ein.

Mit jeder Substanz wurden 5—8 Versuche durchgeführt, von denen je 1 Versuch als Beispiel in Tab. 1 angeführt ist. Saponinum pur. albiss. Merck löste sich in jedem Verhältnis in Wasser, Solanin wurde in Ringer mit einem Zusatz von Äthylalkohol und HCL gelöst, und zwar so, daß 100 cm³ Ringer 2,5 cm³ Äthylalkohol und 2,5 cm³ n/1 HCL enthielten, die anschließend mit der gleichen Menge NaOH neutralisiert wurden. Digitonin konnte in den Verdünnungen nur als feine Suspension hergestellt werden, Ausgangslösung war eine Lösung 1/1000 in Ringer mit 10% Äthylalkohol.

Die Ergebnisse der Versuche in der Tab. 1 zeigen keinen grundsätzlichen Wirkungsunterschied zwischen den einzelnen Saponinen (was ebenfalls schon v. Blumencron[12] beobachtete). Man findet auch keinen Unterschied zwischen den beiden Untergruppen der Saponine, wenn man nur qualitative Gesichtspunkte berücksichtigt; quantitativ kann man allerdings zwischen den Saponinen der Cholangruppe (Digitonin und Solanin) und dem Saponin der Triterpengruppe (Saponinum pur. albiss.) einen Unterschied herausheben, insofern die Konzentrationen für eine fördernde Wirkung an ermüdeten Herzen für Digitoxin bei 1 : 100000, für Solanin bei 1 : 120000 und für Saponinum pur. albiss. bei 1 : 20000, die Grenzkonzentrationen für eine toxische Wirkung für Digitoxin bei 1 : 50000, für Solanin bei 1 : 60000 und für Saponinum pur. albiss. bei 1 : 10000, lagen, also für jede Substanz ungefähr bei der doppelten Konzentration als der therapeutisch wirksamen.

Tabelle 1.

	1		2		3	
	Rheobase	Chronaxie	Rheobase	Chronaxie	Rheobase	Chronaxie
A. Vorperiode	0,07 mA	4 msec	0,09 mA	5,5 msec	0,04 mA	6 msec
RINGER	0,07 „	4 „	0,09 „	5,5 „	0,04 „	6 „
B. Saponin	Digitonin		Solanin		Saponin pur. alb.	
Endkonzentration	1/18000		1/1200		1/3000	
	0,07 mA	4 msec	0,05 mA	10 msec	0,04 mA	8 msec
	0,08 „	4 „	0,08 „	5 „	0,04 „	8 „
	0,08 „	4,5 „	0,11 „	4 „	0,04 „	9 „
	0,07 „	4,5 „	0,11 „	4,5 „	0,04 „	15 „
	0,07 „	3,5 „	0,12 „	4 „	0,04 „	11 „
	0,07 „	2,5 „	0,03 „	20 „	0,04 „	8,5 „
	0,07 „	3 „	0,1 „	5 „	0,04 „	8 „
	0,07 „	5 „	0,11 „	3,5 „	0,03 „	13 „
	0,07 „	7 „	0,08 „	4 „	0,03 „	14 „
	0,07 „	8 „	0,05 „	20 „	0,03 „	12 „
	0,07 „	8 „	0,1 „	7,5 „	0,04 „	11 „
	0,07 „	10 „	0,1 „	4,5 „	0,04 „	12 „
	0,07 „	10,5 „	0,1 „	4,5 „	0,04 „	13 „
	0,07 „	10 „	0,05 „	10 „	0,04 „	14 „
	+		0,1 „	8 „	0,04 „	14 „
			0,1 „	10 „	+	
			0,1 „	10 „		
			0,1 „	10,5 „		

+ bedeutet systolischer Stillstand.

In der Tabelle fällt besonders bei den Solaninversuchen wohl als erstes die große Unregelmäßigkeit der gewonnenen Chronaxiewerte auf. Diese Unregelmäßigkeit ist aber nicht auf einen Fehler in den Messungen zurückzuführen; betrachtet man nämlich gleichzeitig die Veränderungen der Kontraktilität, so sieht man, daß diesen Unregelmäßigkeiten durchaus ein gesetzmäßiger Vorgang zugrunde liegt. Setzt man z. B. einem Ventrikel eine mittlere toxische Konzentration zu, so beobachtet man einen mehr oder weniger starken Abfall der Hubhöhen und einen Anstieg der Fußpunkte, zu gleicher Zeit mißt man eine Verlängerung der Chronaxie meistens verbunden mit einer Verkleinerung der Rheobase. Nun erholt sich aber der Ventrikel verhältnismäßig schnell noch unter der Einwirkung des Saponins von dieser Kontrakturneigung und gewinnt meistens seine alte Hubhöhe zurück, damit geht dann aber auch gleichzeitig eine Wiederverkürzung der Chronaxie einher. Die Abb. 1 gibt einen Kurventeil wieder, aus dem dieses Verhalten deutlich zu ersehen ist.

Bei weiterem Zusatz von Saponinen wiederholt sich nun dieser Vorgang wieder, so daß man also ein Auf und Ab im Kontraktionsbild wie in den Chronaxiewerten bekommt. Von einer bestimmten Konzentration ab erholt sich allerdings der

Ventrikel nicht mehr, sondern zeigt eine zunehmende Verschlechterung, die schließlich in einen systolischen Stillstand übergeht. Diese Konzentrationen lagen für das Digitonin bei 1 : 20—10000, für das Solanin bei 1 : 1200 und für das Saponin. alb. bei 1 : 5000, jedoch muß hinzugefügt werden, daß wir nur beim Saponin. alb. vollständige Kontrakturen erhielten, während bei den beiden anderen Stoffen meistens noch geringe Ausschläge bestehen blieben. Daß wir z. B. beim Solanin auch mit Konzentrationen von 1 : 1200 keinen vollständigen Stillstand erzielten, mag daran liegen, daß nachfolgende Saponingaben in ihrer Wirkung durch die vorhergehenden abgeschwächt werden (siehe dazu auch v. Blumencron[12]).

Abb. 1. Elektr. gereiztes Ventrikelpräparat von Rana Esculenta (Frequenz 16/min). Kontrakturneigung und anschließende spontane Erholung nach einer Solaneinwirkung 1/12000, parallel mit einer Verlängerung und Wiederverkürzung der Chronaxie (in msec) und einer Abnahme und Wiederzunahme der Rheobase (in mA).

Nur wo der Ventrikel durch eine längere Versuchsdauer schon etwas geschädigt war, sah man mit den oben als therapeutisch angegebenen Konzentrationen eine leichte Verbesserung der Hubhöhen, die aber mit keiner Chronaxieverlängerung verbunden war. Man kann also sagen, daß man mit Konzentrationen, die eine Kontrakturneigung des Ventrikels hervorrufen, auch gleichzeitig eine Chronaxieverlängerung auslösen kann, die sich mit der Erholung der Kontraktionen wieder zurückbildet.

II. Erregbarkeitsmessungen an Ventrikeln nach Schädigung durch Kalziummangel.

Um eine deutliche therapeutische Wirkung der Saponine sichtbar zu machen, wurde der Kalziumchloridgehalt der Ringer-Lösung auf $\frac{1}{4}$ des normalen Gehaltes reduziert, was ein Absinken der Kontraktionshöhen auf $\frac{1}{2}$—$\frac{1}{3}$ zur Folge hatte. Aus den 3 durchgeführten Versuchsgruppen mit je 5 Versuchen wurde für jede Substanz ein Beispiel herausgenommen und in der Tab. 2 aufgeführt.

Die Ergebnisse unserer Versuche zeigen, daß die durch die kalziumarme Ringer-Lösung geschädigte Kontraktilität von allen 3 Substanzen wiederhergestellt werden kann, und zwar beim Digitonin mit Konzentrationen von 1 : 200000 bis 100000, beim Solanin mit Konzentrationen von 1 : 120000 und beim Saponin. alb. mit Konzentrationen

Tabelle 2.

	1		2		3	
	Rheobase	Chronaxie	Rheobase	Chronaxie	Rheobase	Chronaxie
A. Vorperiode	0,08 mA	4 msec	0,16 mA	2,5 msec	0,07 mA	4,5 msec
RINGER	0,08 „	4 „	0,16 „	2,5 „	0,07 „	4,5 „
B. Kalziumarmer RINGER	0,08 „	3,5 „	0,15 „	2 „	0,08 „	5 „
C. Saponin-Endkonzentration	Digitonin 1/20000		Solanin 1/1200		Saponin pur. alb. 1/3000	
	0,07 mA	3 msec	0,15 mA	2 msec	0,08 mA	4,5 msec
	0,05 „	3,5 „	0,14 „	2,2 „	0,08 „	4,8 „
	0,04 „	3,5 „	0,14 „	2 „	0,08 „	4,5 „
	0,04 „	3,5 „	0,15 „	2 „	0,08 „	4,8 „
	0,04 „	3,5 „	— O —		0,08 „	4,5 „
	— O —		0,11 „	4,5 „	— O —	
	0,03 „	16,5 „	0,11 „	4,5 „	0,07 „	7 „
	0,05 „	10,5 „	0,12 „	4 „	0,07 „	6,5 „
	0,07 „	10 „	0,14 „	3 „	0,07 „	5 „
	+		0,14 „	2,8 „	0,07 „	7 „
			0,11 „	3,8 „	0,07 „	5 „
			0,11 „	4,5 „	0,06 „	7 „
			0,12 „	5 „	0,06 „	7,5 „
			0,14 „	4,5 „	0,06 „	8,5 „
			0,14 „	4 „	0,06 „	9,5 „
			0,14 „	3 „	0,05 „	8 „
			0,12 „	7 „	0,05 „	8,3 „
			0,11 „	7,5 „	0,05 „	7,5 „
			0,12 „	6 „	0,04 „	8 „
			0,14 „	6 „	+	

—O— bedeutet Ende der therapeutischen Wirkung, + bedeutet systolischer Stillstand.

von 1 : 20000. In allen diesen Versuchen war mit der kontraktionsverbessernden Wirkung nie eine Verlängerung der Chronaxie verbunden, sondern die Chronaxie zeigte in vielen Versuchen eine Verkürzung oder blieb bis zur Einwirkung toxischer Konzentrationen unverändert. Setzten wir die Saponinverabreichung so lange fort, bis wir am Kontraktionsbild die ersten Schädigungen finden konnten, so beobachteten wir auch immer eine Verlängerung der Chronaxie. In der ausgesprochen toxischen Phase der Saponineinwirkung wurde die gleiche Kontrakturneigung und Chronaxieverlängerung und anschließende Erholung und Wiederverkürzung der Chronaxie wie in den ersten 3 Versuchsgruppen beobachtet. Die Erholungsfähigkeit des Ventrikels und die Abschwächung nachfolgender Saponingaben wurde in dem gleichen Ausmaß wie in der ersten Versuchsgruppe beobachtet.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß die Saponine der Cholangruppe (Digitonin und Solanin) und das Saponin der Triterpengruppe (Saponinum pur. albiss.) sich in ihrer Wirkung auf den isolierten Froschventrikel nicht unterscheiden. Es lassen sich lediglich quantitative Unterschiede zwischen den beiden Untergruppen der Saponine herausheben, insofern als die Stoffe der Cholangruppe eine größere Wirkungsstärke besitzen. Die Wirkungsabschwächung nachfolgender Saponingaben war besonders stark beim Solanin ausgeprägt, so daß erst mit Konzentrationen von 1 : 1200 kontrakturähnliche Zustände zu erzielen waren, während wir beim Digitonin schon mit 1 : 20000—10000 systolische Stillstände bekamen.

Interessant ist auch noch, daß bei allen Saponinen die toxischen Wirkungen etwa mit den doppelten Konzentrationen der therapeutisch wirksamen gesehen wurden. Das am stärksten wirksame Saponin war das Digitonin. Nach Kofler[3] hat das Digitonin auch die stärkste Oberflächenaktivität, doch soll zwischen Toxizität und Oberflächenaktivität keine feste Beziehung bestehen. Vielleicht läßt sich auch die Fähigkeit des Digitonins Cholesterin zu fällen (Windaus[14]) zur Erklärung der besonderen Wirkungsstärke dieses Stoffes heranziehen, insofern als nachfolgende Dosen dann nicht mehr in wesentlichem Ausmaß von Cholesterin entgiftet werden könnten.

Sicher ist jedenfalls, daß alle 3 Saponine *therapeutische Wirkungen* auf einen geschädigten Ventrikel auszuüben vermögen, ganz gleich, ob er durch einen Kalziummangel in der Nährlösung oder durch eine Ermüdung geschädigt ist. Dabei war bei allen untersuchten Stoffen *keine Veränderung der Chronaxie* im Sinne einer Verlängerung zu sehen. Veränderungen der Chronaxie in dieser Phase zeigten viel mehr eine Tendenz zur Verkürzung. — Vergleichen wir diese Befunde mit den Ergebnissen der Strophanthinversuche in der ersten Mitteilung, so sehen wir, daß beide Ergebnisse weitgehend übereinstimmen. Auch beim Strophanthin konnten wir in der therapeutischen Phase keine Chronaxieverlängerung nachweisen, vielmehr eine Tendenz zur Verkürzung herauslesen.

Im Verlaufe der *toxischen Saponinwirkung* sahen wir bei allen 3 Saponinen die Ausbildung einer Kontraktur *mit gleichzeitiger Verlängerung der Chronaxie* und einer mehr oder weniger *starken Verkleinerung der Rheobase*. Auch diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen der Strophanthinversuche überein, mit der Einschränkung vielleicht, daß beim Strophanthin in der toxischen Phase die Verkleinerung der Rheobase stärker und regelmäßiger war. Ganz im Gegensatz zu den Strophanthinversuchen steht aber die bei allen Saponinversuchen beobachtete Erholungsfähigkeit des Herzmuskels noch unter der Saponineinwirkung. Mit dieser „Zweiphasigkeit" des Vergiftungsbildes, das auch für die Unregelmäßigkeit der Chronaxiewerte in unseren Tabellen verantwortlich ist, geht außerdem eine gewisse Gewöhnung des Ventrikels an nachfolgende

Saponingaben einher, wie wir es beim Strophanthin ebenfalls nie gesehen haben*.

Es läßt sich also sagen, daß außer den beiden letztgenannten Eigentümlichkeiten einer Saponinvergiftung, die Wirkung dieser Stoffe auf die Kontraktilität und auf die Erregbarkeit durchaus der Strophanthinwirkung entspricht. Quantitativ liegen beide Stoffgruppen aber etwa um eine Zehnerpotenz auseinander.

Wir hatten eingangs schon darauf hingewiesen, daß nach den Arbeiten von Oelssner[1] den Saponinen ebenfalls eine membranabdichtende Eigenschaft zugeschrieben werden kann. Da wir in der ersten Mitteilung die Chronaxieverlängerung durch Strophanthin auf seine membranabdichtende Eigenschaft bezogen, halten wir auch hier die *membranabdichtende Eigenschaft* der Saponine für die Ursache der Chronaxieverlängerung. Auf Grund der gefundenen Chronaxieverlängerungen in der toxischen Phase der Saponineinwirkung können wir gleichzeitig eine verlangsamte Erregungsausbreitung in dieser Phase annehmen, dagegen ist für die fördernde Saponinwirkung nach den Befunden in der therapeutischen Phase eine verzögerte Erregungsausbreitung nicht nachzuweisen.

Zusammenfassung.

Saponine zeigten das gleiche Verhalten wie Digitalisstoffe auf die Erregbarkeit des Froschherzens (Rheobase und Chronaxie). In therapeutischen Konzentrationen erfolgte kaum eine Veränderung der Erregbarkeit, in toxischen Konzentrationen wird die Chronaxie zunehmend verlängert, d. h. auch die Erregungsausbreitung vermindert. Saponine der Triterpen- und Cholanreihe wiesen nur quantitative Wirkungsunterschiede auf.

Unter einer toxischen Saponineinwirkung erfolgte eine spontane Erholung und eine spätere Wirkungsabschwächung gegen erneute Gaben. Parallel damit zeigte sich auch immer ein Rückgang der Chronaxieverlängerung.

Literatur.

[1] Oelssner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **212**, 195 (1951). — [2] Kobert: Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart: Verlag Ferdinand Enke 1904. — [3] Kofler: Die Saponine. Wien: Springer 1927. — [4] Trendelenburg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **61**, 256 (1909). — [5] Kakowski: zit. nach Kobert Bd. III, S. 54. — [6] Weinberg: Z. exper. Path. u. Ther. **20**, 153 (1918). — [7] Ransom: J. of Physiol. **41**, 176 (1917). — [8] Karaulow: Biochem. Z. **32**, 145 (1911). — [9] v. Weizsäcker: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **81**, 247 (1917). — [10] Vollheim: Dissertation Münster 1943. — [11] Müller: Dissertation Göttingen, erscheint 1951. — [12] v. Blumencron: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 584 (1941). — [13] Wendhut: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (Im Druck, 1951). — [14] Windaus: Ber. dtsch. chem. Ges. **42**, 238 (1909).

* Diese Wirkungsabschwächung zweiter Saponingaben beruht nicht auf einer Blockierung der Zellmembran durch Besetzung des Cholesterins, denn auch das später zugesetzte Saponin wird, wie v. Blumencron[12] zeigte, in die Zelle aufgenommen.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 529—541 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Untersuchungen zum reflektorischen Charakter der toxischen Digitalisbradykardie.

Von

Hans Friedrich Zipf und Heinz Ehrlicher.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Oktober 1950.)

Man kann heute mit großer Wahrscheinlichkeit die Annahme vertreten, daß die therapeutische Digitalisbradykardie mittelbar ausgelöst wird, und zwar von der Grundwirkung der Digitalisglykoside her, der Steigerung der systolischen Herzkraft. Diese führt zur „Entstauung" im Vorhof und den herznahen Venen, zu einer Druckentlastung der Rezeptoren des Bainbrigde-Reflexes und dadurch zu einer Herabsetzung der vorher reflektorisch erhöhten Pulsfrequenz. Die therapeutische Digitalisbradykardie läßt sich deshalb mit therapeutischen Dosen nur am insuffizienten Herzen mit Vorhofsstauung und Pulsbeschleunigung einstellen. Was wir als toxische Digitalisbradykardie bezeichnen, zeigt sich hingegen erst im Verlaufe der toxischen Digitaliskumulation oder am gesunden Herzen nach toxischen Dosen. Ein wichtiger Einwand gegen die vagusbedingte Entstehung der therapeutischen Digitalisbradykardie ist deren geringe Beeinflußbarkeit durch nachträgliche Atropingaben, ganz im Gegensatz zur toxischen Bradykardie, die auf Atropin viel besser anspricht. Lendle[17, 18] hat den Unterschied zwischen beiden Bradykardien erst kürzlich nochmals zusammenfassend und auch experimentell behandelt. Er hat angesichts des reflektorischen Charakters der toxischen Digitalisbradykardie über die bisher bekannten Reflexwege hinaus den Wirkungsmechanismus eines Bezold-Jarisch-Reflexes (des kardio-kardialen Zweiges) zur Diskussion gestellt[11, 16], anschließend an Vermutungen von Jarisch[12b], der auch den Digitaliskörpern die Eigenschaften sogenannter „Detektorstoffe" des Bezold-Jarisch-Reflexes zuschrieb.

Hierdurch angeregt, haben wir an Katzen und Kaninchen Versuche durchgeführt, um die Frage zu klären, ob die toxische Digitalisbradykardie kardiogenen Ursprungs ist und einen Sonderfall des Bezold-Jarisch-Reflexes darstellt.

Methodik.

Beim Kaninchen verwandten wir als Narkotikum Urethan (0,5—1 g/kg intravenös), bei Katzen Avertin (180—200 mg/kg peroral). Die *Blutdruckschreibung* erfolgte durchgehend aus der linken Art. carotis communis mittels eines Hg-Manometers. Die *Pulszählung* wurde palpatorisch und mittels eines Schlauchstethoskops überwacht. Zur Unterkühlung der sorgfältig auf eine genügend lange Strecke freigelegten und angeschlungenen Vagus- und Depressornerven am Halse diente das Verfahren von Henze[4].

Die „*Entnervung des Aortenbogens*" erstreckte sich sowohl auf den eigentlichen Aortenbogen vom Ursprung bis über den Abgang der Art. subclavia hinaus, wobei auf die Miterfassung des Ramus aorticus N. vagi geachtet wurde, als auch auf die arteriellen Abgänge bis weit über die Verzweigungen des Truncus brachio-cephalicus und über eine gleichweite Strecke der Art. subclavia hinaus. Die „Entnervung" kann natürlich nicht im wörtlichen Sinne verstanden werden und bedeutet praktisch vor allem eine Unterbrechung der afferenten Depressorfasern möglichst nahe den Ursprüngen. Den Herzbeutel entfernten wir zur weitgehenden Erhaltung der darin laufenden Nervenfasern nur im oberen Teil und soweit, als für den Zugang zu den Ursprungsstellen an den Aortenbogen notwendig war. Künstliche Beatmung erfolgte mittels einer Starlingpumpe. Zur *Entfernung des Karotissinusgebietes* schnitten wir die Gabelungsstelle der Art. carotis communis nach Zerstörung des Karotissinusnerven möglichst weit heraus. Die Blutdruckschreibung an der einen Karotisarterie bedeutete an sich die gleichseitige Karotissinusausschaltung. Sie wurde vorsichtshalber durch Sinusexstirpation ergänzt. Unter „Karotisabklemmung" bzw. Karotissinusentfernung ist somit die Ausschaltung der anderen Seite zu verstehen. Die zu prüfenden Stoffe Kombetin „Boehringer" (K-Strophanthin) und Digitoxin „Merck" wurden durch eine Jugularisvene intravenös langsam injiziert. Im ganzen konnten 33 Versuche ausgewertet werden, davon je 5 Versuche an Kaninchen mit Kombetin bzw. Digitoxin, 8 Versuche mit Kombetin und 7 mit Digitoxin an Katzen, und schließlich 8 Versuche mit Digitoxin an Katzen, deren Aortenbogengebiet entnervt worden war.

Kriterien für die Beurteilung des Reflexursprunges der toxischen Digitalisbradykardie.

Zum Verständnis der folgenden Versuche ist es notwendig, die Anwendbarkeit der von uns benutzten Ausschaltungsmethoden kritisch zu betrachten. Wir haben zunächst, angesichts der experimentellen Beweise von Heymans u. Mitarb.[7, 8, 9, 10] eine zentrale, im Herzvaguszentrum ausgelöste Digitalisbradykardie als nicht in Frage kommend betrachtet und unsere Versuche auf die Reflexapparate des Kreislaufes eingestellt. Dabei müssen wir uns vergegenwärtigen, daß die makroanatomische Trennung zwischen N. depressor und N. vagus sich mit den Ergebnissen der physiologischen und pharmakologischen Ausschaltungsversuche nicht deckt. Vom Ursprungsgebiete des Depressorsystems aus verlaufen die dazu gehörigen Fasern durchaus nicht nur im sogenannten N. depressor. Teile desselben, oder der ganze Nerv vereinigen sich mit dem Vagusstamm und können diesen entweder als Ganzes, oder mit mehr oder weniger Fasern als vorher, zeitweise oder dauernd wieder verlassen. Besonders zu achten ist z. B. auf den Ramus aorticus n. vagi, der gelegentlich den bestgemeinten Entnervungsversuchen im Gebiete des Aortenbogens entgeht. Die geschilderten Verhältnisse gelten insbesondere für die Versuche an Katzen, aber sie treffen auch für das Kaninchen zu (Koch[14]), obwohl wir hier gelegentlich annehmen konnten, daß sich der größte Teil oder alle Fasern des Depressorsystems im anatomischen N. depressor vorfanden. Für die Katze kann

man mit Gewißheit sagen, daß eine Depressordurchschneidung oder -unterkühlung die Aortennerven nicht voll in Abzug bringt, und daß der verbleibende N. vagus am Halse in Wirklichkeit ein Vagus-Depressorsystem enthält. Aus diesen Gründen wurde im folgenden die Bezeichnung Vagusnerven oder Depressornerven immer nur makroanatomisch zu verstehen. Es kommt aber noch eine weitere Schwierigkeit hinzu, wenn wir den Wirkungsanteil der unterkühlten „Vagusnerven" richtig beurteilen wollen. Es laufen darin nicht nur die afferentenVagus- bzw. Depressorfasern, sondern auch die efferenten Vagusfasern. Die Unterkühlung der „Vagusnerven" bedeutet die Blockade der gemeinsamen Endstrecke aller bradykardisch wirkenden Systeme (siehe Schema nach ZIPF[27]). Der Rückgang einer aufgetretenen Digitalisbradykardie könnte somit auf die Unterbrechung der, in den efferenten Vagusfasern verlaufenden Impulse zurückgeführt werden, sei es, daß diese vom Herzvaguszentrum her gesteigert zufließen, sei es, daß die normalen Impulse auf ein sensibilisiertes Erfolgssystem im Herzen treffen. Für den Nachweis der „Detektorstoff-"natur eines Digitaliskörpers ist also die Pulsbeschleunigung, die wir durch Unterkühlung eines selbst von Depressorfasern befreiten Vagusnerven erreichen, nicht beweisend. Den Digitalisstoffen fehlt andererseits die die für den Nachweis des BEZOLD-JARISCH-Reflexes benutzte blutdrucksenkende Wirkungskomponente von Stoffen, wie Veratrin und Viscotoxin. Die für diese Wirkung in Frage kommenden efferenten Wege verlaufen außerhalb des Vagusnerven und werden bei seiner Unterkühlung nicht mitbetroffen. Wir konnten deshalb nicht die Kriterien für den Nachweis eines BEZOLD-JARISCH-Reflexes anwenden, wie sie JARISCH[12a] angibt. Wir schlugen nun ein Verfahren ein, bei dem wir alle bekannten, bradykardisch wirkenden Reflexsysteme vor oder nach Eintreten der Digitalisbradykardie nacheinander in Abzug brachten. Dies geschah teils durch Karotisabklemmung oder durch Nervenunterkühlung („Vagusnerven", „Depressornerven"), teils durch Exstirpation der Reflexursprünge (Entnervung des Aortenbogengebietes bzw. der Karotisgabelung), teils durch Durchschneidung der Nerven („Vagusnerven", „Depressornerven"). Für die Deutung des Reflexursprunges der Digitalisbradykardie konnte es hierbei von Nutzen sein, auch die von anderen Untersuchern erhobenen Befunde unter dem Gesichtspunkte des erst in den letzten Jahren von JARISCH und seiner Schule genauer analysierten BEZOLD-JARISCH-Reflexes zu betrachten. Neben den so im Blickpunkt stehenden reflexogenen Zonen (Karotissinus-, Aorten-, Herzrezeptoren) müssen aber noch weitere Angriffspunkte in Betracht gezogen werden, nicht nur der Sinusknoten, sondern der Herzmuskel (Sensibilisierung) selbst, aber auch noch unbekannte Wirkungsorte. Ihre Beeinflussung erklärt uns vielleicht diejenigen Fälle, in denen nach experimentellem Abzug der 3 genannten Rezeptorengebiete die Digitalisbradykardie noch auftrat bzw. bestehen blieb. Jedenfalls gelang es uns in einigen Versuchen nicht, die Pulsverlangsamung durch Rezeptoren- oder Nervenausschaltung zu beheben.

Es erscheint uns an dieser Stelle eine Beobachtung erwähnungswert, die wir als „*kardiale und vaskuläre Einschaltreaktion*" bezeichnen wollen. Sie zeigte sich in etwa ¼ unserer Versuche bei der Wiedereinschaltung blockierter Kreislaufzügler (z. B. Wiedererwärmung vorher unterkühlter Nerven, Abnahme der Karotisklemme) und bestand darin, daß vorübergehend Blutdruck und Pulsfrequenz mehr oder weniger beträchtlich unter die Ausgangsnorm absanken. Die Abb. 1 gibt ein Beispiel für ein solches Verhalten bei Wiedererwärmung der „Vagusnerven". Vor jeder neuen Versuchsmaßnahme muß zweckmäßig die Rückkehr von Blutdruck und Pulsfrequenz zur Norm abgewartet werden. JARISCH wies schon darauf

hin, daß der Bezold-Jarisch-Reflex (Blutdrucksenkung und Pulsverlangsamung) nach Veratrin sich besonders eindrucksvoll einstellt, wenn man vorher die Halsnerven unterkühlt und diese erst nach der Injektion des Stoffes durch Erwärmen wieder leitend macht. Wir haben dieses Verhalten ebenfalls beobachtet (Zipf[26]).

Es ist jetzt verständlich, warum der Bezold-Jarisch-Reflex auf dem Hintergrunde der vorher durch Halsnervenkühlung erreichten Blutdrucksteigerung um so eindrucksvoller ausfällt: Es verstärkte sich der eigentliche Veratrinkollaps um die schon am normalen Tiere einstellbare „Einschaltreaktion" depressorischer Systeme. Wir machten aber auch noch die Beobachtung, daß bei einigen mit Kombetin bzw. Digitoxin behandelten Katzen die Wiedererwärmung der „Vagusnerven" zum plötzlichen Herzstillstand führte, obwohl die verabreichten Mengen noch beträchtlich unter der tödlichen Dosis lagen. Auch hier muß die „Einschaltreaktion" verstärkend mit der bereits vorhandenen Sensibilisierung bradykardisch wirkender Reflexsysteme, bezw. des Herzmuskels selbst zusammen gewirkt haben.

Ergebnisse.

1. Versuche am Kaninchen.

Kombetin. Gesamtdosen von 50—325 γ/kg wurden in Einzeldosen aufgeteilt 5 Kaninchen vorsichtig intravenös verabreicht. In 3 Fällen kam es zu einer Pulsverlangsamung. Diese trat in einem dieser Fälle ein, trotzdem vor Versuchsbeginn die Depressornerven durchtrennt worden waren und blieb in den beiden anderen Fällen bestehen, obwohl diese Maßnahme nachträglich vorgenommen wurde. Sie ließ sich bei zweien dieser Tiere durch „Vagusnerven"-kühlung partiell bzw. ganz beheben. In allen

Abb. 1. Kaninchen, ♀, 2,5 kg. Narkose: 1 g/kg Urethan intravenös. Eigenatmung. Hg-Manometer an linker Art. carotis communis. Bei $C+$: rechte Art. carot. comm. abgeklemmt, bei $C-$: wieder frei gegeben. Bei K: Halsvagusnerven bds. unterkühlt, bei W: wieder erwärmt. Intravenös bei 1, 3 und 6: je 50 γ/kg, bei 2; 25 γ/kg, bei 4 und 5: je 100 γ/kg Kombetin. Beide Halsdepressornerven bei D li. ∅ und D re. ∅ durchschnitten. Pulsfrequenz je Minute oberhalb der Kurve angegeben.

3 Fällen wirkte aber die Karotisabklemmung am besten. Die Abb. 1 gibt einen Versuch wieder, bei dem die Karotisabklemmung allein in der Lage war, die Pulsverlangsamung zu beheben. Vor der Kombetinverabreichung (50, 25, 50, 100, 100, 50 γ/kg i.v.) hatten Karotisabklemmung und „Vagusnerven"-kühlung nur einen Einfluß auf den Blutdruck, dagegen nicht auf die Pulsfrequenz. Die eingetretene Pulsverlangsamung konnte mittels Karotisabklemmung, nicht aber mittels Durchschneidung der Depressornerven oder „Vagusnerven"-kühlung rückgängig gemacht

werden. Auffallend stark ist die „kardiale und vaskuläre Einschaltreaktion". Beim vierten Tier war eine Exstirpation der Karotisgabelstellen und eine Depressordurchschneidung vorausgegangen. Die Verlangsamung trat nicht ein. Beim fünften Tier blieb sie aus, obwohl alle Blutdruckzügler intakt waren.

Wir konnten also für Kombetin feststellen, daß sich beim Kaninchen durch Ausschaltung der Karotissinusrezeptoren und des Vagusnerven die Digitalisbradykardie beseitigen ließ. Diese Feststellung festigte sich in den folgenden Versuchen mit Digitoxin.

Digitoxin. Es wurden 5 Kaninchen mit intravenösen Digitoxindosen behandelt, und zwar 4 mit je 100 γ, 1 mit 125 γ/kg. Bei 4 Tieren stellt sich Pulsverlangsamung ein, die jedesmal durch Karotisabklemmung und in 3 Fällen auch durch Unterkühlung der Hals-„Depressornerven" oder „Vagusnerven" ganz oder teilweise aufgehoben werden konnte. Das fünfte Kaninchen reagierte nur mit einer leichten Pulsbeschleunigung. Wir hatten den Eindruck, daß sich die Pulsverlangsamung durch Digitoxin leichter und etwas stärker einstellen ließ als durch Kombetin.

Der pro Minute beobachtete absolute Verlangsamungseffekt schwankte nach Kombetin bei Kaninchen zwischen 8 und 36 (im Mittel 26), bei Katzen zwischen 12 und 56 (im Mittel 27,3), nach Digitoxin bei Kaninchen zwischen 12 und 72 (im Mittel 34,3), bei Katzen zwischen 20 und 44 (im Mittel 35), Zahlen, die prozentual gegenüber der Ausgangsfrequenz gerechnet wenig ins Auge treten.

Ein typisches Versuchsbeispiel ist aus Abb. 2 ersichtlich. Vor der Wirkung des Digitoxins lösten Karotisabklemmung, Unterkühlung der

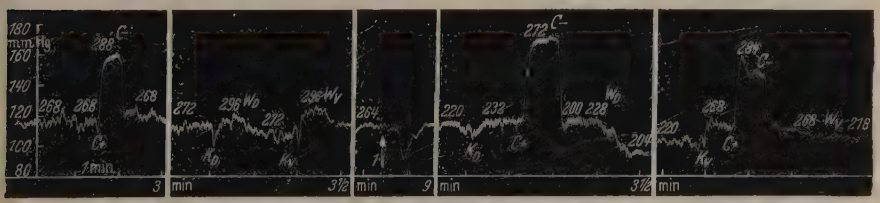


Abb. 2. Kaninchen, ♀, 2,7 kg. Narkose: 0,60 g/kg Urethan intravenös. Hg-Manometer an linker Art. carotis communis. Eigenatmung. $C+$: rechte Art. carotis comm. abgeklemmt, $C-$: wieder freigegeben. K_D: Halsdepressornerven beiderseits unterkühlt, W_D: wiedererwärmt. K_V: Halsvagusnerven beiderseits unterkühlt, W_V: wieder erwärmt. Bei 1:100 γ/kg Digitoxin intravenös. Pulsfrequenz je Minute oberhalb der Kurve angegeben.

Depressornerven oder der Vagusnerven, zusätzlich zur Blutdrucksteigerung, jeweils eine etwa gleich starke Pulsbeschleunigung aus. Die Pulsverlangsamung nach 100 γ/kg Digitoxin i.v. konnte durch Depressorunterkühlung nur geringfügig, durch Karotisabklemmung oder durch „Vagus"-Unterkühlung jedoch vollkommen behoben, durch kombinierte Anwendung der beiden letzten Maßnahmen sogar überkompensiert werden. Diese Versuche mit Digitoxin bestätigen den schon mit Kombetin erhobenen Befund, daß *beim Kaninchen die toxische Digitalis-*

bradykardie sowohl von den Karotissinusrezeptoren als auch vom Vagus-Depressorsystem beseitigt werden konnte.

Die Frage, ob und welcher Anteil des Vagus-Depressorsystems ursächlich mit in Frage kommt, wird weiter unten an der Katze zu klären versucht. Für den dafür notwendigen, schweren Eingriff der Entnervung des Aortenbogengebietes konnten Kaninchen wegen ihrer Empfindlichkeit nicht verwandt werden.

2. Versuche an Katzen.

Kombetin. Dieser Stoff wurde 8 Katzen in unterteilten Dosen von 40—200 γ/kg i.v. verabreicht. Nur in 1 Falle blieb die Pulsverlangsamung aus. in einem anderen kam es zu einer Beschleunigung. Die 6 verbleibenden Tiere zeigten eine deutliche Verlangsamung. Bei zweien dieser Tiere war der

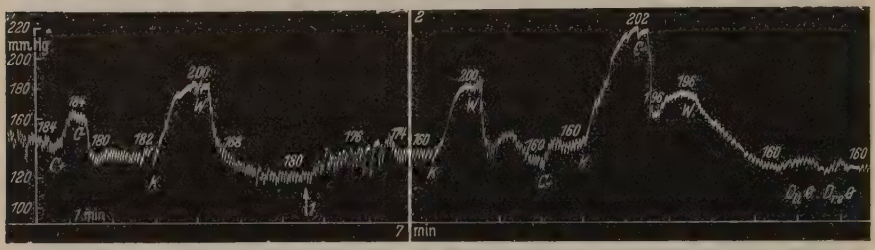


Abb. 3. Katze, ♀ 2,3 kg. Narkose: 200 mg/kg Avertin peroral. Eigenatmung. Hg-Manometer an linker Art. carotis communis. Bei $C+$: rechte Art. carotis comm. abgeklemmt, bei $C-$: wieder freigegeben. Bei K: Halsnerven bds. unterkühlt, bei W: wieder erwärmt. Intravenös bei 1 und 2: je 30 γ/kg Kombetin. Beide Halsdepressornerven bei D li.∅ und D re.∅ durchschnitten.

Karotissinus beiderseits vor dem Versuchsbeginn entfernt worden. Trotzdem trat eine Pulsverlangsamung auf. An einem weiteren dieser Tiere hatte die Karotisabklemmung keinen Einfluß auf die Pulsverlangsamung. In 5 von den 6 reagierenden Fällen verschwand die Pulsverlangsamung jedoch nach Unterkühlung der gesamten Halsnerven wie auch der Vagusnerven allein teilweise oder ganz, oder wurde sogar überkompensiert.

Im Versuche der Abb. 3 können wir diese Tatsache zeigen. Die Karotisabklemmung besaß vor der Kombetininjektion keinen Einfluß auf die Pulsfrequenz, wohl aber die Halsnervenunterkühlung. Der Blutdruck stieg bei beiden Ausschaltungsmethoden an. Nach 2 Injektionen von je 30 γ/kg Kombetin i.v. stellte sich eine Pulsverlangsamung (184 → 160/min) ein. Sie ließ sich durch Halsnervenkühlung beheben und überkompensieren, jedoch nicht durch Karotisabklemmung. Der Blutdruck wurde jedesmal gesteigert. Die Durchschneidung der präparatorisch isolierten Depressornerven war wirkungslos. Nach der Kombination von Karotisabklemmung und Halsnervenkühlung blieb der pulsbeschleunigende Effekt praktisch bestehen, als wir die Karotisabklemmung

davon abzogen, ein anderer Beweis dafür, daß die beschleunigende Wirkung nur auf die Ausschaltung des Vagus-Depressorsystems zurückzuführen ist.

Wir leiteten aus diesen Versuchen den Schluß ab, daß bei der Katze dem Karotissinus nur eine geringe, dem Vagus-Depressorsystem dagegen eine wesentliche Bedeutung bei der Ausschaltung der toxischen Digitalisbradykardie zukam. Dies ließ sich in den nachfolgenden Versuchen mit Digitoxin bestätigen.

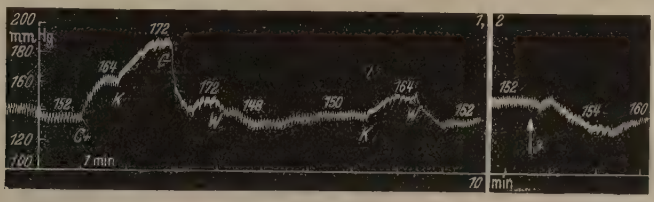


Abb. 4.

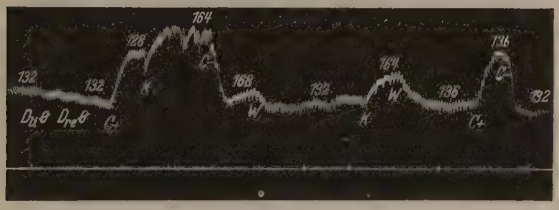


Abb. 4a.

Abb. 4. Katze, ♂, 2,6 kg. Narkose. 200 mg/kg Avertin peroral. Eigenatmung. Hg-Manometer an linker Art. carotis communis. Bei $C+$: rechte Art. carotis comm. abgeklemmt, bei $C-$: wieder freigegeben. Bei K: Halsvagusnerven bds. unterkühlt, bei W: wieder erwärmt. Intravenös bei 1, 2 und 3: je 50 γ/kg Digitoxin. Pulsfrequenz je Minute oberhalb der Kurve angegeben.

Abb. 4a. Fortsetzung des Versuches. Beide Halsdepressornerven bei D li. ∅ und D re. ∅ durchschnitten. Sonstiges siehe oben.

Digitoxin. Nach intravenöser, aufgeteilter Verabreichung von 50—225 γ/kg Digitoxin an 7 Katzen beobachteten wir in allen Fällen eine pulsverlangsamende Wirkung. Bei 3 Tieren hatten wir vorher die Karotisgabelung beiderseits herausgeschnitten. Auch dann entwickelte sich eine Verlangsamung. 3 der Versuchstiere behielten die Pulsverlangsamung, als wir die Karotisabklemmung vornahmen. Nur bei einer der 7 Katzen konnte die Verlangsamung durch Karotisabklemmung partiell behoben werden. Die Ausschaltung des Karotissinusgebietes hatte somit in 6 von 7 Fällen die Digitalisbradykardie nicht aufzuheben bzw. zu verhindern vermocht. Dagegen war die Unterkühlung der Vagusnerven am Halse bei 5 von den 7 Versuchstieren imstande, die Pulsverlangsamung ganz oder teilweise zu beseitigen bzw. zu überkompensieren. Von den beiden letzten Versuchstieren reagierte das eine (schon oben erwähnt) auf Karotisabklemmung. Bei dem zweiten muß ein anderer Wirkungsort

angenommen werden, da eine Exstirpation der Karotisgabelungen vorausgegangen war.

Die Abb. 4 gibt ein typisches Beispiel für die Wirkung auf das Vagus-Depressorsystem allein. Vor der Digitoxininjektion ließen sich durch Karotisabklemmung oder durch Kühlung der Hals-Vagusnerven, zusätzlich zu den jeweiligen Blutdrucksteigerungen, mäßige Pulsbeschleunigungen einstellen, die sich bei gleichzeitiger Anwendung beider Eingriffe summierten. Die nach 3 Einzelinjektionen von je 50/γ pro kg Digitoxin i.v. erzielte Pulsverlangsamung (152→ 132/min) konnte durch eine Durchtrennung der „Depressornerven" nicht beseitigt werden, auch nicht durch Karotisabklemmung, wohl aber durch die Unterkühlung der verbleibenden „Vagusnerven", die in Wirklichkeit noch Depressorfasern enthalten.

Aus den Versuchen mit Kombetin und Digitoxin an Katzen war also zu folgern, *daß die toxische Digitalisbradykardie bei der Katze nur ausnahmsweise vom Karotissinusgebiet her, meistens vom Vagus-Depressorsystem sich beseitigen ließ.* Die Katze unterscheidet sich also in der Genese der Bradykardie von den Kaninchen. Die weitere Aufklärung des Wirkungsortes bei der Katze war dadurch möglich, daß wir die Ausschaltung des Depressorursprungsgebietes im Bereiche des Aortenbogens und der von ihm abgehenden Gefäße vornahmen.

3. Versuche mit Digitoxin an Katzen nach Entnervung des Aortenbogengebietes.

Beginnend mit einer Anfangsdosis von 50 γ/kg Digitoxin i.v. wurden 8 Tiere geprüft. Ihnen hatten wir so sorgfältig als möglich den Aortenbogen von der Wurzel bis hinter den Abgang der Art. subclavia, weiterhin sämtliche Arterienabgänge bis weit nach dem Halse zu entnervt, und

Abb. 5. Katze, ♀, 2,5 kg. Narkose: 60 mg/kg Chloralose + 300 mg/kg Urethan peroral. Aortenbogen und dessen Gefäßabgänge entnervt. Künstliche Atmung. Hg-Manometer an linker Art. carotis communis. *D* li.∅ bzw. *D* re. ∅: Halsdepressornerven bds. durchschnitten. *K* γ: Halsvagusnerven beiderseits unterkühlt, *W* γ: wieder erwärmt. Bei 1, 2, 3, 4 und 5: je 50 γ/kg Digitoxin intravenös. Pulsfrequenz je Minute oberhalb der Blutdruckkurve angegeben.

schließlich noch die anatomisch faßbaren Halsdepressoren durchschnitten. In vorsichtiger gesteigerter Dosierung bis zu Gesamtgaben von 125 bis 250 γ/kg wurde versucht, eine Bradykardie einzustellen. Bei 5 Tieren war dies nicht möglich. Es trat statt dessen eine zunehmende Puls-

beschleunigung auf. Die Abb. 5 zeigt einen solchen Versuch: Der Denervierung des Aortenbogens und der angrenzenden Gefäße wurde kurz nach Versuchsbeginn noch die Durchschneidung der Halsdepressornerven hinzugefügt. Die Pulsfrequenz blieb unverändert. Der fehlende Einfluß der Vagusnervenkühlung beiderseits auf Blutdruck und Puls beweist die gelungene Entnervung. In Abständen wurde nun 5mal jeweils 50 γ/kg Digitoxin injiziert. Die Pulsfrequenz zeigte sich zunächst völlig unbeeinflußt, und die sonst übliche Verlangsamung blieb aus. Von der fünften Digitoxindosis an stieg sie langsam bis zu einer Beschleunigung von 240/min an. Weder über den intakten Karotissinus noch über die intakten Vagusnerven kam also eine Pulsverlangsamung zustande.

Nur 3 der Tiere reagierten mit dieser Pulsverlangsamung. Sie war aber bei einem dieser Tiere nur von vorübergehendem Charakter und dann von einer Tachykardie abgelöst. Die Verlangsamung wiederum ließ sich in den beiden anderen Fällen durch Kühlung der Halsnerven völlig beheben, während die Karotisabklemmung sich als unwirksam erwies. Man kann annehmen, daß bei diesen Tieren die Entnervung des Aortenbogens nicht vollständig gelungen war. Auch die bei den anderen Tieren übliche Tachykardie blieb aus. Das letzte Tier reagierte weder auf Karotisabklemmung noch auf Halsnervenkühlung. Man könnte hier an eine direkte Sinusknotenhemmung denken.

Das Fehlen der Verlangsamung in den 5 gelungenen Versuchen mit ausgeschalteten Aortenrezeptoren und die dafür eintretende Tachykardie kann in Verbindung mit den bisherigen Befunden zunächst so aufgefaßt werden, daß die Beteiligung des efferenten Vagussystems und der Sensibilisierung des Herzmuskels am Wirkungsmechanismus nicht in Frage kam. Als wesentlichste Tatsache geht aber hervor, daß *eine Digitaliseinwirkung auf die Myokardrezeptoren und ein Zustandekommen der Bradykardie im Sinne des kardio-kardialen Zweiges des* Bezold-Jarisch-*Reflexes sich nicht nachweisen ließ.*

Besprechung.

Die Entstehung der toxischen Digitalisbradykardie ist auf verschiedene Weise erklärt worden. An der primären Erregung des Herzvaguszentrums (Cushny[2]) kann angesichts der Tatsache, daß bei der Vagusdurchschneidung auch afferente, aus dem Herzen entspringende Fasern durchtrennt werden und angesichts der Untersuchungen von Hering[5], wie auch der von Heymans, I. F. und C. Heymans[7, 8, 9] mit ihrer speziellen Methode (des isoliert durchströmten, aber innervierten Kopfes) erhobenen Befunde (Hunde) nicht mehr festgehalten werden. Eine sekundäre Erregung des Vaguszentrums durch die digitalisbedingte Blutdrucksteigerung (Meyer, A. B.[20]) wurde von Kochmann[15] experimentell widerlegt und auch von Cushny[3] bestritten. Die Sensibilisierung der Herzvagusendigungen[1, 10, 22, 23] oder, im Sinne von Straub[24], des Herzmuskels selbst, gilt nach Lendle[11, 16] sicherlich nicht für die

therapeutische Digitaliswirkung, kann aber für die toxische Digitalisbradykardie noch nicht bestritten werden. Experimentell gesichert ist die, über den Karotissinus oder den Aortenbogen erfolgende *reflektorische Auslösung der toxischen Digitalisbradykardie*. Man denkt hier vor allem an eine durch Blutdrucksteigerung bedingte Reflexauslösung von den sensibilisierten Rezeptoren her (Hering[5, 6], Heymans u. Mitarb.[7, 8, 9, 10]). Unterstützend kann die erwähnte Sensibilisierung für Vaguserregung hinzukommen. Lendle[11, 16] stellt neuerdings einen Wirkungsmechanismus zur Diskussion, der im Hinblick auf die Untersuchungsergebnisse über den Bezold-Jarisch-Reflex Interesse erregt. Danach könnte die toxische Digitalisbradykardie von den chemisch erregten Herzmuskelrezeptoren über den kardio-kardialen Ast des Bezold-Jarisch-Reflexes zustande kommen. Dies wäre eine neue Entstehungsweise der reflektorischen, toxischen Digitalisbradykardie, die sich den erwähnten Möglichkeiten hinzugesellt.

Schon Jarisch und Richter[13] haben auf die große Ähnlichkeit zwischen den „Detektorstoffen" Veratrin und Mistelherzstoff einerseits und den Digitalisstoffen andererseits hingewiesen. Alle 3 Mittel bewirken Pulsverlangsamung, tonische Herzkontraktur, Rhythmusstörungen heterotopen Ursprunges, anfänglich Zunahme, später Abnahme der Vaguserregbarkeit. Können also die Digitaliskörper zu den „Detektorstoffen" des Bezold-Jarisch-Reflexes gerechnet werden? Werden bestimmte sensible Rezeptoren im Herzmuskel durch die Digitalisstoffe direkt chemisch erregt oder gegenüber dem Dehnungsreiz sensibilisiert? Der Reflexweg müßte dann über die afferenten Vagusfasern zum Herzvaguszentrum und über die efferenten Vagusfasern zum Herzmuskel zurück verlaufen.

Beweiskräftig wäre der direkte Nachweis gesteigerter Aktionsströme in afferenten Herznervenfasern. Allerdings muß dabei feststehen, daß in den betreffenden Fasern wirklich der bradykardische Reflex verläuft. Dies ist nicht immer mit Sicherheit anzunehmen, zumal man für die Ableitung der Aktionsströme die Nervenstämme kopfwärts von der Ableitungsstelle durchschneiden muß. Wir haben an Katzen und Kaninchen zunächst einmal den jeweiligen Anteil des Karotissinus- bzw. des Vagus-Depressorsystems bei den Ausschaltungsversuchen festgestellt. Dabei ersetzten wir das irreversible Verfahren der Nervendurchschneidung durch das schonende der vorübergehenden Blockade durch Unterkühlung. Beide Tierarten zeigten ein unterschiedliches Verhalten. Beim Kaninchen verschwand die Bradykardie zum größeren Teile bei Ausschaltung der Karotissinusnerven, zum geringeren bei einer solchen der Vagus- und Depressornerven. Bei der Katze war der Karotissinus nur ausnahmsweise am Zustandekommen beteiligt, das Vagus-Depressorsystem dagegen fast immer. Daneben gab es einige wenige Katzenver-

suche, bei denen die Bradykardie trotz Karotissinusexstirpation, Depressordurchschneidung und Vaguskühlung bestehen blieb. Vielleicht handelt es sich hierbei um eine direkte Wirkung auf den Sinusknoten. Eine solche Bradykardie kann natürlich auf Vagusblockade nicht verschwinden. Wir erinnern schließlich noch an die Versuche von Weiss[25], nach denen die Bradykardie auch durch Reflexe vom Darmkanal her zustande kommen soll.

Die Katze erschien für die weitere Analyse besser geeignet als das Kaninchen, nicht nur wegen ihrer größeren Widerstandskraft, sondern auch wegen der Tatsache, daß die Bradykardie vor allem im Vagus-Depressorsystem ihren Ursprung hatte. Wir entnervten das Gebiet des Aortenbogens und der angrenzenden arteriellen Abgänge und schalteten dadurch die Aortenrezeptoren aus. Überlegungsgemäß waren hierbei 2 Wirkungen möglich: Entweder das Auftreten einer Bradykardie, die sich durch Vaguskühlung beheben ließ. Sie hätte den kardio-kardialen Anteil des Bezold-Jarisch-Reflexes nicht mit Sicherheit bewiesen, höchstens wahrscheinlich gemacht, vorausgesetzt, daß die Aortenrezeptoren zuverlässig ausgeschaltet waren. Oder, die Bradykardie blieb aus. Wir fanden in den 5 von 8 Digitoxin-Versuchen, die wir als wirklich zuverlässig ansehen konnten, trotz intakten Karotissinussystems keine Bradykardie, statt dessen jedoch eine Tachykardie. Die Dosierung war von einer Anfangsdosis von 50 γ/kg i.v. vorsichtig bis zu Gesamtgaben von 200 bzw. 250 γ/kg gesteigert worden. An Reflexbahnen gab es in den Vagusnerven nur noch afferente und efferente, aus dem Herzen entspringende Vagusfasern. Das Ausbleiben der Bradykardie hielten wir für einen Beweis, daß der *Wirkungsmechanismus des kardio-kardialen Zweiges des* Bezold-Jarisch-*Reflexes, aber auch der Sensibilisierung des Herzens nicht in Frage kam.* Die von uns in kurzdauernden Versuchen gewonnenen Ergebnisse passen gut zu den von Heymans, Bouckaert und Regniers[10] an Hunden erhobenen Befunden. Hier waren die zentripetalen Bahnen des bradykardischen Reflexes durch Denervierung im Gebiete der Herzaortengrenze und des Sinus caroticus ausgeschaltet worden. Bei diesen Tieren trat einige Monate später als Beweis der wirksamen Entnervung eine chronische Blutdrucksteigerung und Trachykardie auf. Auf 30 γ/kg Quabain intravenös kam es im Gegensatz zu den nicht entnervten Kontrolltieren zu keiner Pulsverlangsamung.

Auch die an Stelle der Bradykardie auftretende Tachykardie weist in die Richtung einer Unwirksamkeit des Bezold-Jarisch-Reflexes. Digitoxin zeigt in dieser Hinsicht eine Ähnlichkeit mit Veratrin. Beide Stoffe erregen nicht nur bradykardische, sondern auch tachykardische Systeme. H. H. Meyer[21] hat übrigens zur Erklärung der verstärkten heterotropen Reizerzeugung angenommen, daß die Digitalisglykoside nicht nur den Vagus sondern auch den Sympathikus erregen. Offenbar

spielt der bradykardische Reflexmechanismus früher oder stärker an, als der tachykardische. Schaltet man den bradykardischen Teil mittels vorheriger Nervendurchtrennung oder Exstirpation der Rezeptoren aus, wie im Falle des Digitoxins, oder kommt es bei wiederholter Dosierung zu einer „Tachyphylaxie", wie im Falle des Veratrins, dann zeigt sich nur noch der tachykardische Effekt. Beim Veratrin gilt dieses Überwiegen fördernder Systeme auch für das Verhalten des Blutdrucks. Veratrin reizt alles Reizbare. Dieser Satz könnte in gewissem Maße auch für Digitalis gelten. Es kommt eben nach Ausschaltung des bradykardischen Wirkungsmechanismus seine tachykardische Wirkungskomponente zum Vorschein. Einzig die pressorische Komponente folgt, im Gegensatz zu Veratrin, dieser Annahme nicht immer.

Wenn wir nun für Digitoxin keinen kardio-kardialen Wirkungszweig des Bezold-Jarisch-Reflexes nachweisen konnten, so wollen wir nicht die Ähnlichkeit dieses Stoffes mit Veratrin und dem Mistelherzstoff übersehen. Alle 3 Körper reizen Rezeptoren depressorischer bzw. bradykardischer Kreislaufreflexsysteme, wenn auch verschieden stark. Es mag zum Schluß hinzugefügt werden, daß es neben den schon oben genannten Wirkungsähnlichkeiten noch weitere gibt. So rufen gewisse Digitalisstoffe z. B. lokale Reizwirkung in der Haut und Schleimhaut hervor, die zuletzt in eine Anästhesie übergeht, weiterhin Kontrakturwirkung am quergestreiften Muskel (Literatur siehe bei Lendle[19]), Erscheinungen also, die ganz ähnlich sind, wie nach Einwirkung von Veratrin und Viscotoxin.

Zusammenfassung.

An Katzen und Kaninchen wurde die Frage untersucht, ob die toxische Digitalisbradykardie über den kardio-kardialen Zweig des Bezold-Jarisch-Reflexes zustande kommt. Die verwendeten Digitalisstoffe, Kombetin „Boehringer" und Digitoxin „Merck" wurden intravenös injiziert.

Beim Kaninchen verschwand die Pulsverlangsamung bei beiden Stoffen sowohl durch Ausschaltung des Karotissinus- als auch des Vagus-Depressorsystems. Bei der Katze ließ sich die Bradykardie nur selten von den Karotissinusrezeptoren her, meistens jedoch durch Unterbrechung im Vagus-Depressorsystem beseitigen. Nach Entnervung im Gebiete der Aortenrezeptoren blieb bei der Katze die Pulsverlangsamung aus. Dies war gleichzeitig ein Beweis, daß der kardio-kardiale Zweig des Bezold-Jarisch-Reflexes am Zustandekommen der Pulsverlangsamung keinen ursächlichen Anteil hatte.

Literatur.

[1] Beco u. Dossin: Arch. internat. Pharmacodynamie **25**, 255 (1921). — [2] Cushny, A. R.: J. of exper. Med. **2** (1897). — [3] Cushny, A. R.: Digitalismonographie

S. 66, 1925. — [4] Henze, C.: Arch. internat. Pharmacodynamie **53**, 44 (1936). — [5] Hering, H. E.: Verh, dtsch. Ges. inn. Med. **1930**, 192. — [6] Hering, H. E.: Z. Kreislaufforschg **22**, 287 (1930). — [7] Heymans, J. F., u. C. Heymans: J. of Pharmacol. **29**, 203 (1926). — [8] Heymans, J. F., u. C. Heymans: Arch. internat. Pharmacodynamie **32**, 2 (1926). — [9] Heymans, C.: Erg. Physiol. **28**, 300 (1929). — [10] Heymans, C., J. J. Bouckaert u. P. Regniers: Arch. internat. Pharmacodynamie **44**. 31 (1932). — [11] Hohensee, F., u. L. Lendle: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **207**, 388 (1949). — [12] Jarisch, A.: a) Arch. Kreislaufforschg **9**, 1 (1941). — b) Wien. klin. Wschr, **1949**, 1. — [13] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **1939**, 185. — [14] Koch, E.: Reflektorische Selbststeuerung des Kreislaufes. Dresden und Leipzig: Verlag Steinkopf 1931. — [15] Kochmann, M.: Arch. internat. Pharmacodynamie **16**, 22 (1906). — [16] Lendle, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 197 (1948/49). — [17] Lendle, L.: Z. Kreislaufforschg. **39**, 193 (1950). — [18] Lendle, L.: Neue med. Welt **1950**, Nr. 3 S. 1. — [19] Lendle, L.: Heffters Hdb. exp. Pharmakol. Erg. Bd. 1 S. 208 u. 237. Berlin: Springer 1935. — [20] Meyer, A. B.: Unters. phys. Labor. Zür. Hochsch. 1869. — [21] Meyer, H. H.: Wien. med. Wschr. **1920**, 11. — [22] Pentimalli, F.: Z. exper. Med. **11**, 10 (1920). — [23] Rothberger u. Winterberg: Arch. Physiol. **132**, 233 (1910). — [24] Straub, W.: Die Digitalisgruppe. Heffters Hdb. exp. Pharmakol. II/2, S. 1420. Berlin: Springer 1924. — [25] Weiss: Med. Clin. N. Amer. **15**, 963 (1932). — [26] Zipf, H. F.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 49 (1950). — [27] Zipf, H. F.: Klin. Wschr. **1950**, 593.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 542—550 (1951).

Aus der inneren Abteilung des städt. Krankenhauses Bielefeld
(Chefarzt: Prof. Dr. H. J. Wolf).

Methionin- und Zuckerwirkung auf die vergiftete Rattenleber.

Von

Rudolf Remy und Norbert Gerlich.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Mai 1950.)

Die Tetrachlorkohlenstoffvergiftung führt in der Rattenleber zu schweren Degenerationserscheinungen mit völliger Entparenchymatisierung, besonders in den Läppchenzentren, vorwiegend peripherer Verfettung, hochgradiger Vakuolenbildung und großblasiger Auftreibung[1]. Entsprechend der Schwere der Vergiftung ist der Glykogengehalt der Leber herabgesetzt, der Fettgehalt erhöht. In den meisten Fällen findet man gerade bei Vergiftungen mit Tetrachlorkohlenstoff diese Veränderungen entsprechend dem Grade der Schädigung. Ein Anstieg des Glykogens und eine Verminderung des bei Degeneration vermehrten Fettgehaltes der Leber würde daher einer Verbesserung der Funktion des Organs entsprechen müssen.

Tierexperimentelle Untersuchungen[1] über die Beeinflussung des Glykogen- und Fettgehaltes von Lebern an Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratten bei Gaben von Monosacchariden zeigten eine eindeutige Steigerung des Glykogengehaltes, besonders nach Invertzuckergaben, aber keine sicher nachweisbare Verminderung des pathologisch vermehrten Fettgehaltes. Dagegen läßt sich durch Zufuhr von Cholin und Methionin auch eine Senkung des Fettes in geschädigten Lebern erzielen[2–11]. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich bedingt[12, 13] durch mobile Methylgruppen des Cholins, bzw. des nach Methioningaben verstärkt auftretenden Cholins.

Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen sollte es sein, quantitative Beziehungen der Wirkung verschiedener Dosen Methionin bei experimenteller Tetrachlorkohlenstoffvergiftung und gleichzeitiger Monosaccharidzufuhr festzustellen, unter dem Vorbehalt, daß die Ergebnisse keinen zeitlichen Ablauf, sondern nur den Zustand eines willkürlich gewählten Zeitpunktes des pathologischen Geschehens wiedergeben.

In der Behandlung der Lebererkrankungen gewinnt das Eiweiß, besonders aber die schwefelhaltige Aminosäure Methionin immer mehr an Bedeutung. Andererseits wird den Kohlenhydraten nach wie vor eine Schutzwirkung auf das Leberparenchym zugesprochen.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten uns gesunde weiße Ratten im Gewicht von 140—180 g. Die Tiere wurden auf die Versuchsgruppen so verteilt, daß die Einzelgewichte nicht mehr als ± 20 g vom Gruppendurchschnitt abwichen.

Die Vergiftung durch Tetrachlorkohlenstoff erfolgte durch subkutane Injektion von 1 cm^3/150 g Ratte. Methionin („THIOMEDON", Chemiewerk Homburg A.G., Frankfurt) wurde mit physiologischer Kochsalzlösung auf ein solches Volumen verdünnt, daß bei Schlundsondenfütterung mit oder ohne Zuckerlösung stets das gleiche Volumen verabreicht wurde. Traubenzucker und Invertzucker („INVERSOL", Chem.-Pharm. Fabrik. Dr. A. Wolff, Bielefeld) wurden in 20%iger Lösung verabfolgt. Die Methionin- und Zuckerapplikation geschah in den ersten Versuchsreihen in 2 gleichen Portionen, und zwar 3 Std vor der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung und 3 Std vor der Tötung, in späteren Versuchen einmal entweder 3 Std vor der Vergiftung, oder 3 Std vor der Tötung mit der gesamten Dosis. Sowohl für die Vergiftung als auch für die Zucker- und Methioningaben wurden stets die gleichen Tageszeiten gewählt. Die Tetrachlorkohlenstoffvergiftung erfolgte stets um 11 Uhr vormittags. Bis zur Vergiftung hungerten alle Versuchstiere 51 Std. Die Wasserzufuhr wurde nicht beschränkt. Die Tötung der Tiere führten wir durch Dekapitieren 24 Std nach der Vergiftung durch. Auch während dieser 24 Std nahmen die Tiere weder Eiweiß noch Kohlenhydrate oder Fette auf.

Sofort nach der Tötung wurden die Lebern herauspräpariert und im Wägeglas gewogen. Zur Glykogen-, Eiweiß- und Fettbestimmung, sowie zur Feststellung des Wassergehaltes schnitten wir nach Möglichkeit stets die gleichen Leberteile mit dem Skalpell heraus und achteten darauf, daß zur Glykogenbestimmung das Leberstückchen sofort verarbeitet wurde.

Die Glykogenbestimmung erfolgte nach der durch Good, Kramer und Somogyi[14] modifizierten Pflügerschen Methode. Nach der sauren Hydrolyse wurde die Zuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen vorgenommen. Die Eiweißbestimmung geschah nach der durch Ljungdahl[15] modifizierten Kjeldahl-Methode aus frischen Leberstücken. Die Fettbestimmung erfolgte im ätherlöslichen Anteil nach Extraktion im Soxleth Zur Wasserbestimmung wurde ein entsprechender Leberanteil bis zur Gewichtskonstanz über Phosphorpentoxyd im luftverdünnten Exsikkator getrocknet.

Die in den Abbildungen und Tabellen angeführten Werte sind auf das Feuchtgewicht der Leber berechnet. Sie stellen für die einzelnen Dosen und Bestimmungen das arithmetische Mittel aus mindestens 10 Einzelbestimmungen dar.

Da bei Tieren, insbesondere bei Nagetieren, eine gleichmäßige Zufuhr von Nahrungsstoffen durch die Verfütterung nur schwer durchzuführen ist, nahmen wir für unsere Versuche prinzipiell immer nur Tiere, die eine bestimmte Zeit gehungert hatten. Wie Vorversuche ergaben, war nach 48 Std bei sämtlichen Tieren — sowohl solchen, denen vorher viel Kohlenhydrate, als auch solchen, denen nur kleine Mengen Kohlenhydrate verfüttert wurden — der Glykogengehalt der Leber praktisch gleichgroß. Die Ausgangsbedingungen dürften damit für alle Versuche als praktisch gleich anzusehen sein. Dadurch sind allerdings extreme Bedingungen geschaffen worden, die eine bedingungslose Übertragung der Versuchsergebnisse auf physiologische Verhältnisse wesentlich erschweren.

Versuchsergebnisse und Besprechung.

Zunächst galt es festzustellen, in welcher Weise sich Glykogen-, Eiweiß- und Fettgehalt unvergifteter Rattenlebern nach verschiedenen Methionindosen ändern. Der Eiweißgehalt blieb praktisch bei allen

Versuchen gleich. Diese Werte sind deshalb in den Abbildungen nicht mit dargestellt. (Abb. 1) Im Fettgehalt der Lebern läßt sich lediglich bei Gaben von 10 und 40 mg eine geringfügige Erhöhung erkennen. Der Glykogengehalt zeigt bei der größten Methionindosis eine deutlich nachweisbare Verminderung. Dieses Ergebnis scheint in einem gewissen Gegensatz zu der Gremelsschen Auffassung[16] zu stehen, wonach Aminosäuren den Glykogenansatz fördern. Die Tatsache aber, daß die Tiere vor der ersten Methioningabe bereits seit 48 Std hungerten, läßt darauf schließen, daß der Glykogenansatz in der Leber unter Methionin nur bei gleichzeitiger Kohlenhydratzufuhr erfolgt.

Die dissimilatorische Wirkung großer Methioningaben tritt genau so deutlich bei gleichzeitiger Kohlen-

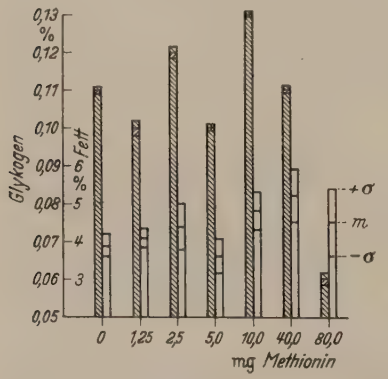


Abb. 1.

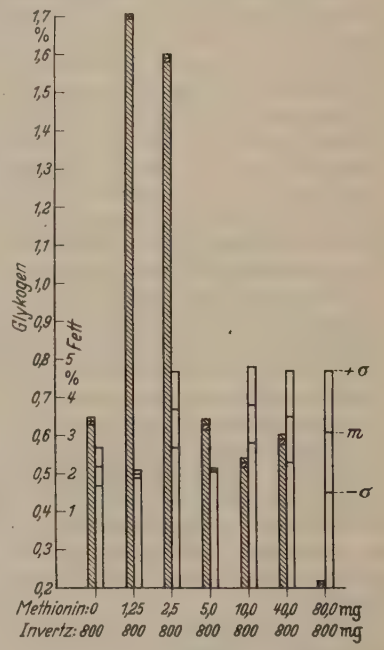


Abb. 2.

Abb. 1. Glykogen- und Fettgehalt von Rattenlebern bei verschiedenen Dosen Methionin. Schraffierte Säulen Glykogengehalte. Weiße Säulen Fettgehalte.

Abb. 2. Glykogen- und Fettgehalt von Rattenlebern bei verschiedenen Dosen Methionin und gleichzeitiger Invertzuckerzufuhr. Schraffierte Säulen Glykogengehalte. Weiße Säulen Fettgehalte.

hydratzufuhr in Erscheinung. Verfütterten wir kleine Methionindosen zusammen mit Invertzucker (Abb. 2) oder auch Traubenzucker, so fand sich regelmäßig eine Steigerung des Glykogengehaltes, sogar bis zum Dreifachen des Wertes, wie er bei alleiniger Zuckerzufuhr erhalten wurde. Dieses Ergebnis entspricht der Gremelsschen Auffassung. Es zeigt sich eindeutig, daß die assimilatorische Wirkung dieser Aminosäure bei Kohlenhydratangebot auftritt. Es erwies sich zugleich, daß bei gleichzeitiger Zuckerzufuhr die Richtung der Methioninwirkung, ob assimilatorischer, ob dissimilatorischer Effekt von der Dosis des Methionins abhängt. Daß bei gleichzeitiger Zufuhr kleiner Methionin-

dosen zusammen mit Invertzucker ein größerer Glykogengehalt der Leber als zusammen mit Traubenzucker gefunden wurde, ist verständlich, da das äquimolekulare Gemisch von Dextrose und Lävulose, entsprechend seinem Gehalt an Fruchtzucker, eine größere Glykogenanlagerung in der Leber bewirkt[16–20]. Anscheinend kommt aber dabei der gleichzeitigen Zufuhr von Glukose und Fruktose eine besondere Bedeutung zu[1]. Bei den auch hier (Abb. 2) nicht unerheblichen Schwankungen des Fettgehaltes läßt sich kein sicherer Unterschied angeben.

Zur Feststellung, welchen Einfluß Methionin- und Monosaccharidgaben in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zufuhr auf die vergiftete Leber ausüben, teilten wir die weiteren Untersuchungen folgendermaßen ein:

	Tag X		x + 24 Std	
	8 Uhr	11 Uhr	8 Uhr	11 Uhr
A	Methionin bzw. Methionin + Invertz.	vergiftet	—	†
B	„	„	Methionin bzw. Methionin + Invertz.	†
C	—	„	„	†

Die vergifteten Kontrolltiere zeigten 24 Std nach der Vergiftung mit 0,07% Leberglykogen nur einen sehr geringfügigen Abfall gegenüber den unvergifteten Kontrollen.

Diese Beobachtung wird dadurch verständlich, daß der Glykogenschwund auch unter pathologischen Bedingungen offenbar ein Minimum nicht unterschreitet, wie es auch Höpker[21] unter anderen Bedingungen fand. Der Glykogenabbau der Leber vollzieht sich anscheinend nicht linear, sondern entsprechend einer Exponentialfunktion, wobei sich der der Zeitachse nähernde Teil der Kurve zu einer Asymptote entwickelt[22].

Weder bei den Tieren der Gruppe A, noch der Gruppe B und C, denen lediglich verschieden große Dosen Methionin gegeben wurden, zeigten sich deutlich faßbare Unterschiede des Glykogengehaltes gegenüber den nur mit Tetrachlorkohlenstoff behandelten Kontrolltieren. Immer lagen die Werte niedriger als diejenigen, die den mit der gleichen Dosis Methionin behandelten unvergifteten Tieren entsprechen.

Der Fettgehalt nimmt nach Vergiftung etwa um das Doppelte zu und liegt bei Gaben von 2,5 mg Methionin und darüber (Versuchsreihe B und C) nach 24 Std deutlich niedriger, während bei Methioningaben 3 Std vor der Vergiftung (Versuchsreihe A) ein sicherer Abfall nicht beobachtet wurde.

Von größerem Interesse war daher für uns das Verhalten von Glykogen und Fett bei vergifteten Tieren bei gleichzeitiger Gabe von Zucker

Tabelle 1. *Verhalten von Leberglykogen- und Fettgehalt an mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratten bei verschiedenen Dosen Methionin und Invertzucker bei Gaben vor und nach der Vergiftung.*

Jede Gruppe enthielt mindestens 10 Versuchstiere.

Dosen in mg/100 g Körpergewichte	bei prophylaktischer Gabe				bei kurativer Gabe			
	Glykogen in % des Lebergewichtes. Durchschnitts-Wert	σ	Fett in % des Lebergewichtes. Durchschnitts-Wert	σ	Glykogen in % des Lebergewichtes. Durchschnitts-Wert	σ	Fett in % des Lebergewichtes. Durchschnitts-Wert	σ
800 mg Invertzucker (Kontrollgruppe) . .	0,120	± 0,009	8,30	± 0,75	0,090	± 0,011	8,60	± 1,10
1,25 mg Methionin 800 mg Invertzucker .	0,163	± 0,005	7,24	± 1,07	0,135	± 0,010	7,86	± 1,59
2,5 mg Methionin 800 mg Invertzucker .	0,203	± 0,030	6,40	± 0,69	0,176	± 0,029	6,31	± 2,81
1,25 mg Methionin 400 mg Invertzucker .	0,144	± 0,010	6,09	± 1,59	0,128	± 0,045	5,9	± 1,38
40,0 mg Methionin 800 mg Invertzucker .	0,091	± 0,021	6,70	± 2,52	0,081	± 0,015	6,6	± 2,60

und Methionin. Bei den Versuchsreihen, bei denen die Zucker-Methionin-Gaben nicht in 2 gleichen Teilen gegeben wurden (Versuchsreihe A und C), verfütterten wir anfangs die Methionindosis mit 800 mg Invertzucker. Dabei stellte sich heraus, daß bisweilen Durchfälle auftraten, so daß wir uns entschlossen, die Zuckerdosis auf die Hälfte herabzusetzen (Tab. 1). Wir entnehmen aus dieser Darstellung — allerdings mit dem Vorbehalt, daß bei Zufuhr größerer Zuckermengen infolge des Auftretens von Durchfällen die Resorption möglicherweise nicht vollständig erfolgte —, daß unter den hier gewählten Vergiftungsbedingungen bei prophylaktischen Zuckergaben der Glykogengehalt zwar beträchtlich unter den der unvergifteten Kontrollen herabgemindert ist, dennoch aber höher liegt, als bei den vergifteten Hungertieren. Anscheinend ist auch die so vergiftete Leber noch in der Lage (Versuchsreihe C) Glykogen anzulagern.

Sowohl bei der Versuchsreihe A als auch der Reihe C zeigt sich wieder, daß durch gleichzeitige

Methionin-Zuckerzufuhr der Leberglykogengehalt größer ist als bei alleiniger Zuckerzufuhr, sofern die Methioningaben klein waren. Bei 40 mg Methionin liegen die Glykogenwerte bereits niedriger als bei den Tieren, die lediglich Invertzucker erhielten. Fanden wir nach Zuckerzufuhr ohne Methionin bei prophylaktischer Anwendung einen höheren Glykogengehalt als bei kurativer Gabe, so zeigte sich bei gleichzeitiger Methioninapplikation ein entsprechendes Verhalten.

Nach Zuckerzufuhr läßt sich weder bei Gaben vor noch nach der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung ein auch statistisch faßbarer Unterschied der Fettwerte gegenüber den Kontrolltieren nachweisen. Bei gleichzeitiger Methioninzufuhr jedoch nimmt sowohl bei prophylaktischer als auch kurativer Gabe der Fettgehalt ab, erreicht aber bei weitem nicht normale Werte. Auf den Eiweißgehalt der Leber hat auch hier weder die Kohlenhydrat- noch die Methioninzufuhr einen entscheidenden Einfluß.

Von ganz besonderem Interesse war es für uns zu sehen, ob bei gleichzeitiger prophylaktischer und kurativer Gabe von Invertzucker, bzw. von Invertzucker und Methionin eine weitere Erhöhung des Glykogengehaltes, bzw. Abnahme des Fettgehaltes zu erreichen ist. Die Abb. 3 zeigt das Versuchsergebnis. Wir stellen auch hier fest, daß bei alleiniger Zuckerzufuhr nur eine geringfügige Zunahme des Leberglykogens gegenüber den vergifteten Kontrolltieren beobachtet wird. Größenordnungsmäßig liegen diese Werte im Bereich der durch die Versuchsreihen A und C ermittelten Werte. Wieder steigt bei gleichzeitiger Gabe kleiner Methioninmengen (1,25—5 mg) das Leberglykogen an und fällt bei größeren Dosen sogar unter den Wert ab, wie wir ihn bei alleiniger Zuckerzufuhr fanden. Die Eiweißwerte zeigten wiederum keine Besonderheiten. Die Fettwerte dagegen waren gegenüber den Kontrollen bei sämtlichen Methionindosen deutlich erniedrigt. Auffällig aber ist, daß der niedrigste Fettgehalt bei relativ kleinen Methioningaben gefunden wurde.

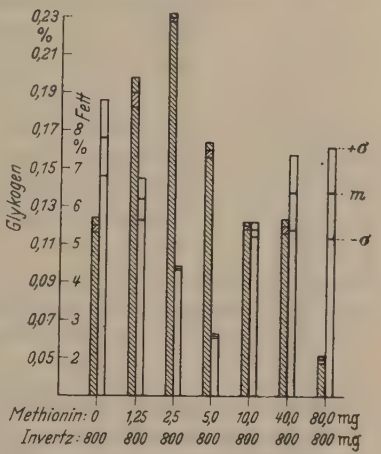


Abb. 3. Glykogen- und Fettgehalt von Lebern von mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratten bei gleichzeitiger prophylaktischer und kurativer Gabe von Invertzucker und verschiedenen Dosen Methionin. Schraffierte Säulen Glykogengehalte. Weiße Säulen Fettgehalte.

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Versuchsreihen A und C gegenüber B ergibt sich, daß das Glykogenanlagerungsvermögen der geschädigten Leber mit dem Erreichen einer gewissen Menge an Glykogen nicht erschöpft ist. Ein sicher quantitativ auswertbarer Vergleich dieser

Ergebnisse aber ist nur bedingt zulässig, da wir aus bereits oben angeführten Gründen bei einigen Versuchen die Invertzuckergabe auf 400 mg, also die Hälfte der sonst verabfolgten Zuckerdosis reduzieren mußten. Die Versuche weisen trotzdem darauf hin, daß eine Unterteilung der Gesamtdosis an Methionin und Zucker in eine prophylaktische und eine kurative Gabe höhere Glykogenwerte und einen niedrigeren Fettgehalt der Leber bewirkt, als die Verabfolgung dieser Gesamtdosis allein, entweder vor oder nach der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung.

Beim Vergleich der Glykogenwerte, wie sie nach Zufuhr gleicher Zucker- und Methionindosen bei vergifteten und unvergifteten Tieren gefunden wurden (Abb. 4), ergibt sich ein weit höherer Glykogengehalt bei den unvergifteten Tieren. Es zeigt sich aber, daß bei beiden die höchsten Glykogenwerte bei der gleichen Methioningabe liegen. Das Optimum der Glykogenanlagerung wird daher für vergiftete und unvergiftete Tiere bei gleicher Methionin-Invertzuckerdosis beobachtet.

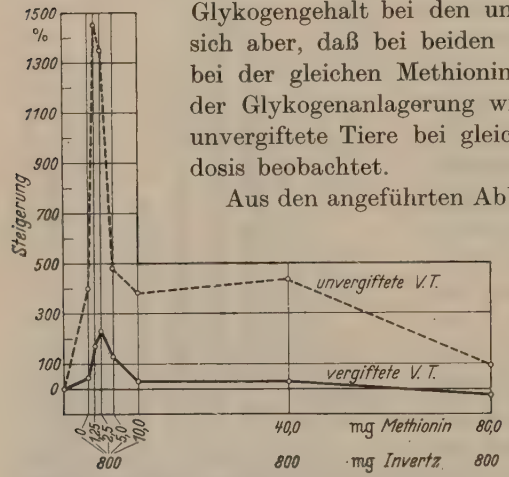


Abb. 4. Vergleich der Glykogenwerte von vergifteten und unvergifteten Lebern bei Gaben von Invertzucker bzw. Invertzucker und verschiedenen Dosen Methionin.

Aus den angeführten Abbildungen und Tabellen zeigt sich eindeutig, daß das Methionin nur den unter pathologischen Bedingungen erhöhten Fettgehalt der Leber vermindert. Diese Beobachtung wurde bereits schon durch Channon[8] u. Mitarb. mitgeteilt, die angaben, daß diese Wirkung des Methionins erst bei erhöhtem Fettgehalt der Leber auftritt. Bei alleiniger Methioninzufuhr fanden wir in allen Fällen, unabhängig von der gewählten Dosis, eine Erniedrigung des pathologisch vermehrten Leberfettes. Bei gleichzeitiger Kohlenhydratzufuhr beobachteten wir bei hohen Methionindosen einen praktisch gleichgroßen Effekt. Kleine Methioningaben aber zeigten auffälligerweise eine bedeutend größere Wirkung. Die niedrigsten Fettwerte wurden bei solchen Methioninmengen gefunden, die die größtmögliche Glykogenanlagerung bedingten. Diese Beobachtung läßt die Vermutung zu, daß die Wirkung des Methionins auf das Leberfett von dem Glykogengehalt der Leberzelle abhängt. Der Glykogengehalt der Leberzelle aber wird durch große Dosen Methionin infolge der dissimilatorischen Wirkung der Aminosäure Methionin vermindert, während kleine Dosen den Glykogenansatz fördern. Die dissimilatorische Wirkung des Methionins äußert sich jedoch lediglich im Kohlenhydratstoffwechsel der Leberzelle, so daß der

Lipoid- und Fettstoffwechsel auch durch große Methioningaben nicht beeinflußt wird. Ist der Glykogengehalt aber erhöht, wie es allein durch kleine Methioningaben in Verbindung mit Zucker zu erreichen ist, so liegen besondere Bedingungen vor, die auch den von anderen Autoren[23–25] beobachteten Antagonismus zwischen Leberfett und Glykogen erklären könnten. Dieser Antagonismus tritt danach nicht nur an einer geschädigten Leber zutage, sondern auch unter den von uns gewählten Bedingungen, also der Zufuhr von Kohlenhydraten und Methionin.

Nach den hier wiedergegebenen Untersuchungen kommt neben dem Methionin mit seiner Wirkung auf den Leberfettstoffwechsel, auch den Kohlenhydraten mit ihrem Glykogenbildungsvermögen bei der Beeinflussung geschädigter Lebern eine bedeutende Rolle zu.

Zusammenfassung.

Hungernden, gesunden und mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratten wurden verschieden große Methioninmengen allein und zusammen mit gleichgroßen Monosaccharidosen (Traubenzucker und Invertzucker) durch die Schlundsonde verabfolgt. Methionin hat bei unvergifteten Tieren weder auf den Glykogen- noch auf den Fettgehalt einen Einfluß. Bei großen Dosen wurde eine Verminderung des Glykogens beobachtet.

Zusammen mit Invertzucker bzw. Traubenzucker hingegen läßt sich in der nicht geschädigten Leber bei kleinen Methionindosen eine beträchtliche Steigerung des Glykogengehaltes erzielen.

Bei Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff war der pathologisch vermehrte Fettgehalt bei prophylaktischer Methioningabe nicht vermindert, dagegen zeigte sich eine deutliche Verminderung bei Methioninzufuhr nach der Vergiftung.

Auch in der geschädigten Leber läßt sich nach Zufuhr kleiner Methioningaben in Verbindung mit Monosacchariden eine Steigerung des Glykogens gegenüber alleiniger Zuckergabe erzielen, da hierbei die Aminosäure Methionin die Assimilation fördert. Große Dosen hingegen wirken dissimilatorisch.

Bei den Methionindosen, die zusammen mit Monosacchariden die größte Glykogenanlagerung bewirken, wurde die stärkste Verminderung des Fettes gefunden. Dem Glykogengehalt der Leberzelle muß daher hierbei eine besondere Bedeutung zukommen.

Literatur.

[1] Remy u. Terbrüggen: Z. ges. inn. Med. 1950, 645. – [2] Blumberg u. McCollum: Science **93**, 598 (1941). — [3] Lillie, Daft u. Sebrell: Publ. Health Rep. **56**, 1255 (1941). — [4] Daft, Sebrell u. Lillie: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **50** (1942). — [5] Himsworth u. Glynn: Clin. Sc. **5**, 133 (1944). — [6] Traedwell: J. of biol. Chem. **160**, 601 (1945). — [7] Clark, Eilert u. Dragstedt: Amer. J. Physiol. **144**, 620 (1945). — [8] Channon u. John: Ref. Ber. ges. Physiol. **111**, 236 (1939). — [9] Hougk, Smith u. Freeman: Amer. J. Physiol. **138**, 184 (1943). — [10] Eddy: J. Amer.

med. Assoc. **128**, 994 (1945). — [11] Basset, Best, Mac Lean u. Ridout: J. of Physiol. **97**, 103 (1939). — [12] Jakobi u. Baumann: J. of biol. Chem. **142**, 65 (1942). — [13] Du Vigneaud c. s.: J. of biol. Chem. **140**, 625 (1941). — [14] Good, Kramer u. Somogyi: J. of biol. Chem. (Amer.) **100**, 485 (1933). — [15] Ljundahl: Biochem. Z. **380**, 115 (1917). — [16] Gremels: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 225 (1944); **205**, 57 (1948). — [17] Minkowski: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **31**, 217 (1893). — [18] Neubauer: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **61**, 174 (1909). — [19] Wierzuchowski u. Sekuracki: Biochem. Z. **276**, 91 (1935). — [20] Cori, C., u. H. Cori: J. of biol. Chem. **76**, 755 (1928). — [21] Höpker: Klin. Wschr. **1947 I**, 337. — [22] Gerlich u. Remy: Erscheint in Kürze. — [23] Rosenfeld: Med. Klin. **1932 I**, 707. — [24] Schulte, K. E.: Biochem. Z. **313**, 78 (1942). — [25] Reiss u. Schwoch: Z. exper. Med. **49**, 270 (1926).

Dr. med. Rudolf Remy, Bielefeld, Städt. Krankenhaus.
Dr. med. Norbert Gerlich, Bielefeld, Sudbrackstraße 56.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 212, S. 551—567 (1951).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock
(Direktor: Prof. Dr. med. P. Holtz).

Über die sympathikomimetische Wirksamkeit von Herzmuskelextrakten*.

Von
Peter Holtz, Günther Kroneberg und Hans-Joachim Schümann.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Oktober 1950.)

In früheren Arbeiten[1] haben wir gezeigt, daß die sympathikomimetische Wirksamkeit von Extrakten aus menschlichem und tierischem *Harn* hauptsächlich durch *Arterenol*, das dem Adrenalin entsprechende entmethylierte Brenzkatechinderivat (Nor-adrenalin) verursacht ist. Da das auch für *Kaninchen* und *Meerschweinchen* zutraf, deren Nebennierenmarkinkret im Gegensatz zu dem aller anderen untersuchten Tierarten nach unseren Befunden[2] kein Arterenol, sondern nur Adrenalin enthält, war es unwahrscheinlich, daß das Harnarterenol aus den Nebennieren stammte. Die Tatsache, daß mit alleiniger Ausnahme der *vasokonstriktorischen* alle anderen pharmakologischen Wirkungen — die Hemmungswirkung auf glattmuskelige Organe, die glykämische[3] und die oxydationssteigernde, grundumsatzerhöhende[4] Wirkung — beim Arterenol weit schwächer als beim Adrenalin ausgeprägt sind, daß ferner der Arterenolgehalt des Harns bei bestimmten Formen der *Hypertonie* ein Mehrfaches der Norm beträgt[5], wies auf die sympathischen Nerven der *Gefäße*, die Vasokonstriktoren, als die wichtigste Quelle des Harnarterenols hin.

Der Arterenolgehalt des Harns würde somit zum Indikator für den Tonus des „arterenergisch" innervierten Gefäß-Systems[6]. Andererseits würde verständlich, daß an der pharmakologischen Wirkung von Extrakten aus sympathisch innervierten Organen Arterenol maßgeblich beteiligt ist; denn die Organe sind mit Gefäßen und diese mit „arterenergischen" Nerven versorgt.

Versuche mit Arterenol und Adrenalin am Menschen hatten ergeben, daß Arterenol im Gegensatz zu Adrenalin nicht nur den *systolischen*, sondern auch den *diastolischen* Druck erhöht, und daß es nach Arterenol

* Herrn Geheimrat E. Rost, Heidelberg, zum 80. Geburtstag gewidmet.

Siehe auch P. Holtz: „Adrenergische und arterenergische Herzinnervation". Vortrag auf der 17. Pharmakologentagung in Bad Nauheim April 1950, sowie P. Holtz, G. Kroneberg und H. J. Schümann: „Adrenalin- und Arterenolgehalt des Herzmuskels", Klin. Wschr. **1950**, 653.

Arterenol war — „ratio" Adrenalin : Arterenol also 20 : 1 —, übte Adrenalin in der Dosierung 0,075 γ, d. h. in einer mehr als 30fach niedrigeren Dosierung als sie im Blutdruckversuch zur Anwendung gekommen war, eine deutliche Hemmung auf die durch 1 γ Azetylcholin ausgelöste Kontraktion aus. Würde die blutdrucksteigernde Wirksamkeit des Extraktes nur durch Adrenalin verursacht sein, so müßte der Rinderherzextrakt in 30mal geringerer Menge als am Blutdruck, also in der Dosierung 0,01 cm³, die gleiche Wirkung am Uterus haben wie 0,075 γ Adrenalin. Der Versuch zeigt jedoch, daß nicht 0,01 cm³, sondern erst 0,5cm³ Herzextrakt — die 50fache Dosis — mit Adrenalin äquivalent sind. Die sympathikomimetische Wirksamkeit des untersuchten Herzextraktes kann deshalb nur zum kleinsten Teil durch Adrenalin, weitaus überwiegend muß sie durch eine andere Substanz verursacht sein, die — wie Arterenol — sich von Adrenalin dadurch unterscheidet, daß sie am Katzenblutdruck stärker, am Rattenuterus schwächer wirksam ist.

Zur *Berechnung* des Adrenalin- und Arterenolgehaltes sind von Bülbring[14] und von v. Euler[15] geeignete Formeln angegeben worden. Wir haben unserer Berechnung die folgenden Formeln nach v. Euler zugrunde gelegt.

$$\text{Adrenalin in } \gamma = \frac{A - a}{Q - q} = x;$$

$$\text{Arterenol in } \gamma = A - x \cdot Q,$$

in denen A das Arterenoläquivalent einer bestimmten Extraktmenge am Uterus ist, a desgleichen am Blutdruck; Q das Arterenoläquivalent von 1 γ Adrenalin am Uterus q desgleichen am Blutdruck.

Als Beispiel für alle anderen Versuche soll im folgenden die Berechnung für den Versuch der Abb. 1 wiedergegeben werden. Folgende Zahlenverhältnisse ergeben sich:

Blutdruck: 0,3 cm³ Extrakt (1 : 5) = 2,5 γ Adr. = 0,25 γ Art.
1 cm³ Extrakt (1 : 1) = 41,2 γ Adr. = 4,1 γ Art.
1 γ Adr. = 0,1 γ Art. (in Abb. 1a nicht abgebildet) („Ratio" Adr. : Art. also 1 : 10).

Uterus: 0,5 cm³ Extrakt (1 : 5) = 0,075 γ Adr. = 1,5 γ Art.
1 cm³ Extrakt (1 : 1) = 0,75 γ Adr. = 15 γ Art.
1 γ Adr. = 20 γ Art. („Ratio" also 20 : 1).

Also ist: $A = 15$; $a = 4{,}1$; $Q = 20$; $q = 0{,}1$.

$$\text{Adrenalin in } \gamma = \frac{A - a}{Q - q} = \frac{15 - 4{,}1}{20 - 0{,}1} = x = 0{,}55\ \gamma \text{ Adr.}$$

$$\text{Arterenol in } \gamma = A - Q \cdot x = 15 - 20 \cdot 0{,}547 = 4{,}1\ \gamma \text{ Art.}$$

1 cm³ Extrakt enthält demnach 0,55 γ Adrenalin (11,9%) + 4,1 γ Arterenol (88,1%).

Zur Sicherung dieses Ergebnisses wird der Extrakt noch an einem anderen Testobjekt mit einer wiederum verschiedenen „ratio", nämlich am gelagerten Kaninchendarm mit der ratio Adrenalin : Arterenol = 1 : 4 (2 γ Adrenalin = 0,5 γ Arterenol) ausgewertet. Das gelagerte Ileum reagiert ziemlich wenig empfindlich auf Adrenalin und Arterenol, so daß hier höher dosiert werden muß. Am Blutdruck (ratio 1 : 10) waren 0,3 cm des Extraktes (1 : 5) so wirksam wie 0,25 γ Arterenol.

Vom unverdünnten Extrakt hätte man demnach die 5fach kleinere Menge, also 0,06 cm³ benötigt; 0,12 cm³ Extrakt hätten 0,5 γ Arterenol entsprochen. Enthielte der Extrakt nur Arterenol, so müßten wie am Blutdruck so auch am gelagerten Darm 0,12 cm³ Extrakt gleich wirksam mit 0,5 γ Arterenol sein. Da aber die „ratio" Adrenalin : Arterenol eine verschiedene ist — am *Blutdruck* 1 : 10, am *Darm* 1 : 4 —.

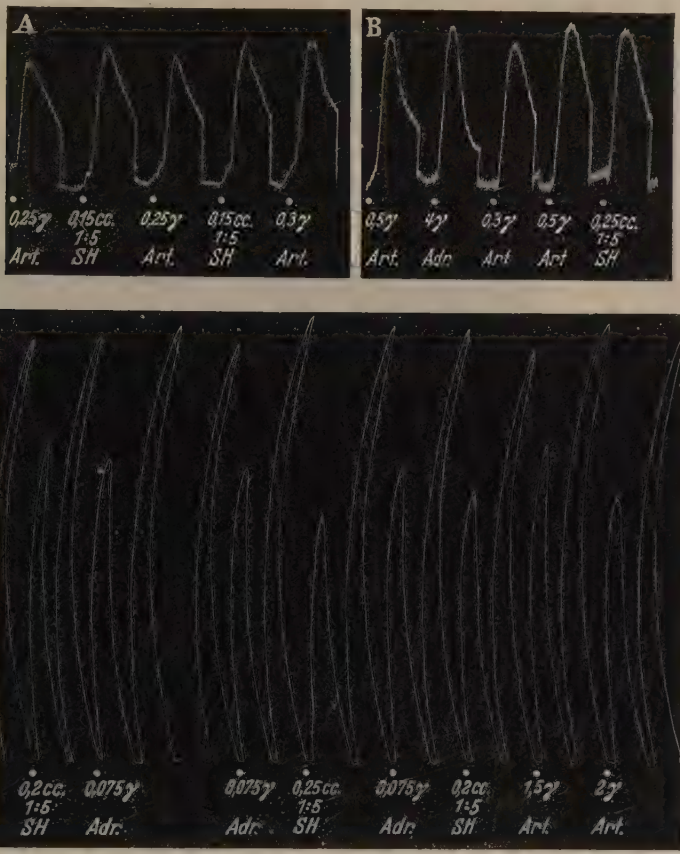


Abb. 2. *Auswertung eines Schweineherzextraktes am Blutdruck und Rattenuterus. Adr.* = l-Adrenalin; *Art.* = l-Arterenol; *SH* = Extrakt (100 g Herzmuskel in 5 cm³).

A u. B *Blutdruck.* Katze 2,7 kg 0,15 cm³ Extrakt (1 : 5) = 0,3 γ Art. (a) — 4 γ Adr. = 0,5 γ Art. (b). Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art also 1 : 8.

C *Rattenuterus.* 0,2 cm³ Extrakt (1 : 5) = 0,075 γ Art. Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 25 : 1 (0,075 γ Adr. = 2 γ Art.).

so beteiligt sich das im Extrakt zu etwa 10% vorhandene Adrenalin am *Darm* in höherem Maße an der Gesamtwirkung als am *Blutdruck*. Deshalb werden am Darm nicht 0,12, sondern nur 0,1 cm³ Herzextrakt benötigt, um eine mit 0,5 γ Arterenol übereinstimmende Hemmungswirkung zu erzielen.

Die genaue Berechnung nach den angegebenen Formeln unter Einsetzung der für *Uterus* und *Darm* gefundenen Werte ergibt denn auch eine

befriedigende Übereinstimmung mit den Werten, die vorher unter Zugrundelegung der am *Uterus* und *Blutdruck* vorgenommenen Auswertung errechnet wurden: 90,9% Arterenol und 9,1% Adrenalin.

b) Schweineherz. Ein Schweineherzextrakt, von dem 5 cm³ 100 g Ventrikelmuskulatur entsprechen, wird am Katzenblutdruck gegen Arterenol ausgetestet: 0,15 cm³ Extrakt (1 : 5) ist gleichwirksam mit 0,3 γ l-Arterenol (Abb. 2A). — In diesem Versuch beträgt die „ratio" Adrenalin : Arterenol 1 : 8 (Abb. 2B). 4 γ Adrenalin sind 0,5 γ Arterenol äquivalent.

Die Auswertung am Rattenuterus ergibt bei einer „ratio" von 25 : 1 (0,075 γ Adrenalin = 2 γ Arterenol) gleiche Hemmungen mit 0,075 γ Adrenalin und 0,2 cm³ Herzextrakt 1 : 5 (Abb. 2C).

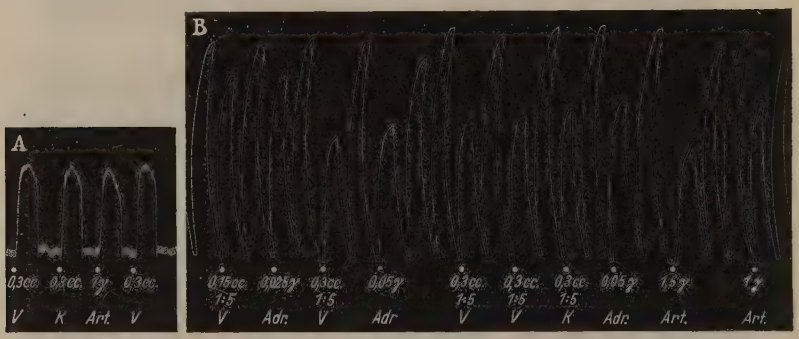


Abb. 3. *Auswertung eines Vorhof- und Kammermuskulaturextraktes aus Schweineherz am Blutdruck und Rattenuterus. Adr.* = l-Adrenalin; *Art.* = l-Arterenol; *V* = Vorhofextrakt; *K* = Kammerextrakt (je 42 g Muskulatur in 5 cm³).

a. *Blutdruck.* Katze 2,5 kg 0,3 cm³ Vorhofextrakt = 0,3 cm³ Kammerextrakt. — 0,3 cm³ Extrakt = 1 γ Art. Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 1 : 10 (nicht abgebildet).

b. *Rattenuterus.* 0,3 cm³ Kammer- bzw. Vorhofextrakt (1 : 5) = 0,05 γ Adr. Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 20 : 1 (0,05 γ Adr. = 1 γ Art.).

Also: am *Blutdruck* 2,4 γ Adrenalin (oder 0,3 γ Arterenol) = 0,15 cm³ Extrakt (1 : 5); am *Uterus* 0,075 γ Adrenalin = 0,2 cm³ Extrakt (1 : 5). Aus dieser Gegenüberstellung ist schon zu ersehen, daß auch hier die Hauptwirkung des Extraktes nicht auf seinem Adrenalingehalt beruhen kann.

Die Berechnung ergibt ähnlich wie für Rinderherz 86,1% Arterenol und 13,9% Adrenalin.

In einem anderen Versuch wurden Kammer- und Vorhofmuskulatur miteinander verglichen (Abb. 3). Je 42 g Muskulatur waren zu 5 cm³ Extrakt verarbeitet worden. In A sieht man, daß Vorhof- und Kammerextrakt praktisch die gleiche Blutdruckwirksamkeit besitzen, und in B, daß beide auch am Rattenuterus bei gleicher Dosierung gleichstarke Wirkungen hervorrufen. Die Berechnung ergibt, daß Vorhof- und Kammerextrakt 79% Arterenol, 21% Adrenalin enthalten.

c) Kaninchen- und Meerschweinchenherz.

Gaddum und Kwiatowski[16] fanden in Versuchen an Ringer-durchströmten Kaninchenohren, daß bei der durch elektrische Stimulierung des Halssympathikus verursachten Konstriktion der Ohrgefäße eine Substanz in die Perfusionsflüssigkeit übertrat, die sich an allen biologischen Testobjekten wie reines Adrenalin verhielt und auch die nach Gaddum und Schild[17] für Adrenalin besonders charakteristische Fluoreszenzreaktion gab, die mit Arterenol negativ ausfällt.

Wir selbst konnten in vorausgegangenen Arbeiten[2] zeigen, daß im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Tierarten — Katze, Hund, Schwein, Rind und Mensch —, deren Nebennierenmark neben Adrenalin zu 25—60% Arterenol enthält, in der *Kaninchen-* und *Meerschweinchen*nebenniere sich nur Adrenalin nachweisen läßt. Berücksichtigt man ferner, daß Adrenalin — am Katzen- und Hundeblutdruck weit schwächer wirksam als Arterenol — nach unseren Untersuchungen[13] gerade bei *Kaninchen* und *Meerschweinchen* 4—5 mal stärker blutdruckwirksam ist, so scheint alles dafür zu sprechen, daß der für die Umwandlung von Arterenol in Adrenalin erforderliche Methylierungsmechanismus bei Kaninchen und Meerschweinchen offenbar besser funktioniert als bei den anderen Tierarten und beim Menschen. Es konnte deshalb mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß bei Kaninchen und Meerschweinchen vielleicht auch in anderen Gebieten sympathischer Innervation Adrenalin in höherem Maße als bei den übrigen Tierarten an der chemischen Übertragung der Nervenerregung beteiligt ist.

Wir haben insgesamt 11 Versuche mit Kaninchen, 10 Versuche mit Meerschweinchen-Herzextrakten gemacht (1 Kaninchen- bzw. 2 Meerschweinchenherzen auf je 4—5 cm^3 Extrakt). Das Mengenverhältnis von Adrenalin und Arterenol wies im Gegensatz zu den für Rinder- und Schweineherzen gefundenen Werten große Schwankungen auf. Der Adrenalingehalt betrug in manchen Fällen bis zu 35%, in anderen aber lag er mit 10—15% im Bereich der gleichen Größenordnung, die für die anderen Tierarten gilt.

2. Menschliche Herzmuskelextrakte.

In der Einleitung wurde schon erwähnt, daß Bacq und Fischer[9] für menschliche Herzmuskelextrakte und Extrakte aus menschlichen Koronargefäßen *Adrenalin* als einzigen Träger der sympathikomimetischen Wirksamkeit fanden. Die Autoren führten ihre Untersuchungen an Katzen aus und benutzten zur Differenzierung zwischen Adrenalin und Arterenol Nickhaut und Uterus als Testobjekte. Während Adrenalin und Arterenol an der Nickhaut ungefähr gleich wirksam sind, hat Arterenol am virginellen Katzenuterus, wie schon von Barger und Dale[18] angegeben wurde, eine viel schwächere Wirkung als Adrenalin. Dementsprechend bleibt eine Arterenoldosis, die eine gleichstarke Kontraktion der Nickhaut hervorruft wie eine bestimmte Adrenalinmenge, am Uterus unter Umständen unwirksam, während Adrenalin eine deutliche Erschlaffung des Uterusmuskels verursacht. In den Versuchen von Bacq und Fischer verhielten sich die Extrakte aus menschlichen Koronarien und menschlicher Herzmuskulatur wie Adrenalin.

Wir haben bis jetzt 7 menschliche Herzen aufgearbeitet und die Extrakte am Katzenblutdruck und Rattenuterus ausgetestet. In allen Fällen waren die Herzextrakte in einer Dosierung, die sich am Katzenblutdruck als von gleicher Wirkung wie eine bestimmte Adrenalinmenge

erwiesen hatte, am Rattenuterus weniger wirksam als die Testdosis Adrenalin. In den Extrakten mußte also eine blutdrucksteigernde Substanz vorhanden sein, die bei mindestens gleicher Blutdruckwirksamkeit weniger uteruswirksam war als Adrenalin. Arterenol besitzt diese Eigenschaft. Das Mengenverhältnis von Arterenol und Adrenalin wies außerordentlich große Schwankungen auf, wie aus der untenstehenden Tabelle

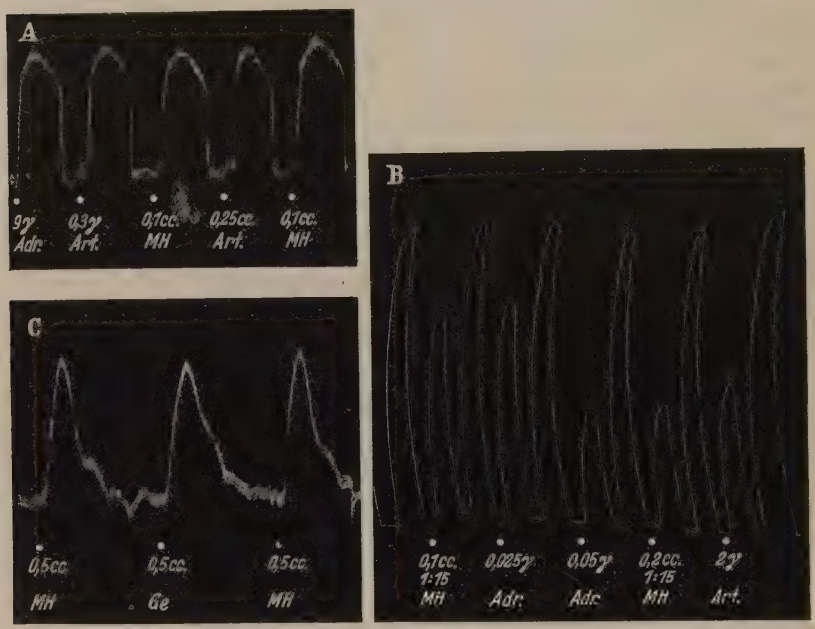


Abb. 4. *Auswertung eines Menschenherzextraktes am Blutdruck und Rattenuterus. Adr.* = l-Adrenalin; *Art.* = l-Arterenol; *MH* = Menschenherzextrakt (100 g Herzmuskel in 5 cm³); *Ge* = Adrenalin-Arterenolgemisch, das in 1 cm³ 3,7 γ Adr. und 2,5 γ Art. enthält (siehe Text).

A *Blutdruck.* Katze 3,1 kg 0,1 cm³ Extrakt = 0,25 γ Art. — Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 1 : 30!

B *Rattenuterus.* 0,1 cm³ Extrakt (1 : 15) = 0,025 γ Adr. — Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 50 : 1 (0,05 γ Adr. ungefähr 2,5 γ Art.).

C *Blutdruck.* Katze 2,7 kg 0,5 cm³ Extrakt = 0,5 cm³ Gemisch (Erläuterung siehe Text). Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 1 : 3 (nicht abgebildet).

hervorgeht. Das in der Abb. 4 gegebene Versuchsbeispiel entspricht einem Extrakt mit dem höchsten Adrenalingehalt, den wir jemals in menschlichen Herzextrakten gefunden haben.

In der Abb. 4A ist ein menschlicher Herzextrakt (1 cm³ Extrakt = 20 g Muskulatur) am Katzenblutdruck gegen Arterenol und Adrenalin ausgewertet: bei einer exzessiv hohen „ratio" von 1 : 30 (0,3 γ Arterenol = 9 γ Adrenalin) stimmt die Wirkung von 0,1 cm³ Extrakt mit derjenigen von 0,25 γ Arterenol (oder 7,5 γ Adrenalin) überein. — Am Rattenuterus mit der „ratio" von 50 : 1 ruft eine 300fach schwächere Adrenalindosis als am Blutdruck, nämlich 0,025 γ, eine deutliche Hemmungswirkung hervor. Die gleiche Hemmungswirkung müßte deshalb von 0,1 cm Extrakt 1 : 300 hervorgerufen werden, wenn dieser, wie Bacq aus seinen

Versuchen schließt, nur Adrenalin als wirksame Substanz enthielte. Der Extrakt darf aber nicht auf das 300fache, sondern nur auf das 15fache verdünnt werden, um mit der Testdosis Adrenalin gleich wirksam zu bleiben (Abb. 4B).

Die in 4A durch den Extrakt verursachte Blutdrucksteigerung kann deshalb nur zum Teil auf vorhandenem Adrenalin beruhen, zu einem anderen Teil muß sie durch einen Stoff von weit geringerer Uteruswirksamkeit bedingt sein: *Arterenol.*

Die Berechnung des prozentualen Mengenverhältnisses ergibt 59,7 % Adrenalin und 40,3 % Arterenol, in absoluten Mengen pro 1 cm³ Extrakt 3,7 γ Adrenalin und 2,5 γ Arterenol.

Als „experimentum crucis" zeigt die Abb. 4C einen Versuch, in dem ein künstlich hergestelltes Adrenalin-Arterenolgemisch in aqu. dest., das dem für den Herzextrakt errechneten Mengenverhältnis, nämlich 3,7 γ Adrenalin + 2,5 γ Arterenol pro cm³, entsprach, am Blutdruck einer anderen Katze mit dem Extrakt verglichen wurde. Die praktisch vollkommene Übereinstimmung von 0,5 cm³ Extrakt mit 0,5 cm³ Gemisch spricht dafür, daß exakt ausgewertet und richtig berechnet wurde.

Tabelle 1. *Adrenalin- und Arterenolgehalt menschlicher Herzmuskel- und Koronargefäßextrakte.*

Vers.-Nr.	Material	Adrenalin in %	Arterenol in %	Adrenalin in γ/10 g Gewebe	Arterenol in γ/10 g Gewebe	Aufarbeitung post mortem.
1	Herzmuskel	22,6	77,4	0,7	2,39	3½ Std
2	,,	10,8	89,2	0,44	3,65	4 ,,
3	,,	53,2	46,8	0,82	0,72	6 ,,
4	,,	23,3	76,7	0,073	0,24	9 ,,
5	,,	38,6	61,4	1,16	1,85	12 ,,
6	,,	59,7	40,3	1,85	1,25	24 ,,
7	,,	54,2	45,8	0,59	0,5	52 ,,
1	Koronargefäße	24,8	75,2	1,08	3,28	24 ,,
2	,,	unwirksam	—	—	—	—
3	,,	unwirksam	—	—	—	—

Die Tab. 1 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse von Versuchen mit 7 verschiedenen menschlichen Herzmuskelextrakten und mit 3 verschiedenen Koronargeäßfextrakten.

3. Froschherz.

Die Abb. 5 stellt einen Versuch dar, in dem ein Froschherzextrakt aus 10 Herzen — 1 cm³ Extrakt = 300 mg Herzmuskel — am Kaninchendarm mit der „ratio" 2 : 1, anschließend am Rattenuterus mit der „ratio" 25 : 1 ausgewertet wurde. Am *Kaninchenileum* ist 0,1 cm³ Herzextrakt schwächer wirksam als die Testdosis Adrenalin (0,5 γ). Diese stimmt mit 0,2 cm³ Extrakt überein (Abb. 5A). — Am *Rattenuterus* (Abb. 5B) wird

der auf das 10fache verdünnte Herzextrakt gegen Adrenalin ausgetestet. 0,2 cm³ Extrakt 1 : 10 müßten, wenn der Extrakt nur *Adrenalin* als wirksame Substanz enthielte, in ihrer Wirkung mit 0,05 γ Adrenalin übereinstimmen, oder 0,3 cm³ Extrakt 1 : 10 mit 0,075 γ Adrenalin, was auch der Fall ist.

An allen Testobjekten verhalten sich Froschherzextrakte im Gegensatz zu den Herzextrakten aller anderen untersuchten Tierarten und des Menschen wie reine Adrenalinlösungen.

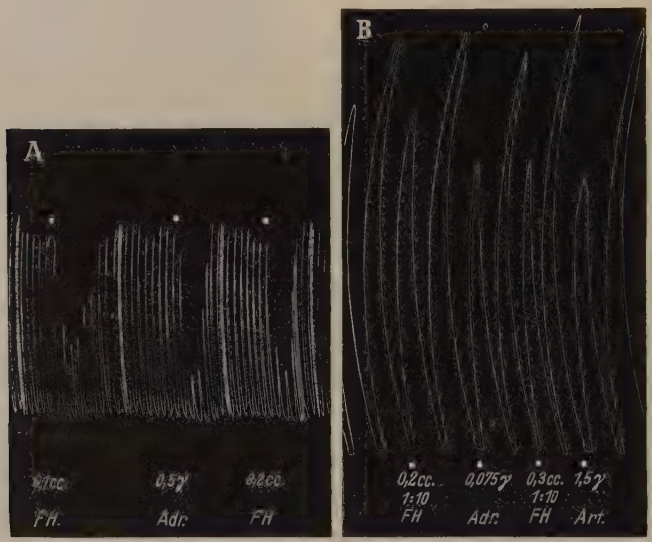


Abb. 5. *Auswertung eines Froschherzextraktes am Kaninchendarm und Rattenuterus. Adr.* = l-Adrenalin; *Art.* = l-Arterenol; *FH* = Extrakt (900 mg Muskulatur in 3 cm³).

A *Kaninchendarm.* 0,2 cm³ Extrakt = 0,5 γ Adr. Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 2 : 1 (nicht abgebildet).

B *Rattenuterus.* 0,3 cm³ Extrakt (1 : 10) = 0,075 γ Adr. Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 20 : 1 (0,075 γ Adr. = 1,5 γ Art.).

4. Vergleichsversuch über die Blutdruck- und Darmwirkung der Herzextrakte sämtlicher untersuchter Tierarten in „uterusäquivalenter" Dosierung.

Das Ergebnis der bisher mitgeteilten Austestungen einzelner Herzextrakte mit anschließender Berechnung des prozentualen und absoluten Adrenalin- und Arterenolgehaltes soll durch die in der Abb. 6 zusammengefaßten Übersichtskurven direkt vor Augen geführt werden. Es hatte sich gezeigt, daß an der sympathikomimetischen Wirksamkeit der Herzmuskelextrakte sämtlicher untersuchter Tierarten und des Menschen beide Sympathikomimetika: Adrenalin *und* Arterenol in wechselndem Mengenverhältnis beteiligt waren. Nur im Froschherzen war Adrenalin der alleinige Träger der Wirkung. Die Auswertungen wurden an Test-

objekten von zum Teil außerordentlich verschiedener Ansprechbarkeit auf Adrenalin und Arterenol vorgenommen. So reagierte der *Blutdruck* der mit Atropin und Gynergen vorbehandelten Katze weit empfindlicher auf Arterenol als auf Adrenalin, während der isolierte *Rattenuterus* praktisch nur auf das im Extrakt vorhandene Adrenalin ansprach.

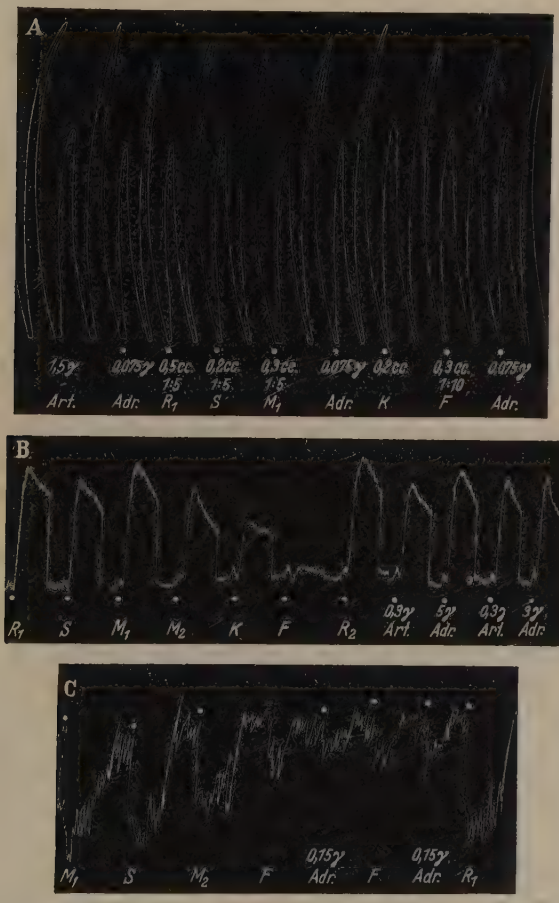


Abb. 6. *Vergleich der Wirksamkeit von Herzmuskelextrakten verschiedener Tierarten an 3 verschiedenen Testobjekten. Adr.* = l-Adrenalin; *Art.* = l-Arterenol; Herzmuskelextrakt von Schwein (*S*), Rind (R_1 und R_2), Kaninchen (*K*), Mensch (M_1 und M_2), Frosch (*F*). Alle Extrakte wurden am Rattenuterus gegen Adrenalin ausgetestet. Von jedem Extrakt wurde die 0,075 γ Adrenalin entsprechende Dosis im Blutdruckversuch an der Katze und im Versuch mit gelagertem Kaninchendarm (hier in doppelt hoher Dosierung) gegeben.

A *Rattenuterus.* 0,075 γ Adr. entsprechen: 0,5 cm³ (1 : 5) R_1; 0,5 cm³ (1 : 5) R_2; 0,2 cm³ (1 : 5) *S*; 0,3 cm³ (1 : 5) M_1; 0,2 cm³ *K* und 0,3 cm³ (1 : 10) *F*. — Testdosis Azetylcholin : 2 γ. Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 20 : 1 (0,075 γ Adr. = 1,5 γ Art.).

B *Blutdruck.* Katze 2,5 kg Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 1 : 10 (0,3 γ Adr. = 3 γ Art.). — Die Extrakte werden in gleicher Dosierung wie am Uterus gegeben; M_2 = 0,45 cm³ (1 : 10).

C *Gelagerter Darm.* Extrakte und Adrenalin werden in 2fach höherer Dosierung gegeben wie am Uterus. — Wirksamkeitsverhältnis Adr : Art = 1 : 4 (nicht abgebildet).

In dem Übersichtsversuch der Abb. 6 wurde zunächst für sämtliche Herzextrakte die Dosis ermittelt, die am *Rattenuterus* mit einer bestimmten Adrenalinmenge — nämlich 0,075 γ — wirkungsmäßig übereinstimmte (Abb. 6A). Die so ermittelten Extraktmengen wurden dann an der Katze in bezug auf ihre *Blutdruckwirksamkeit* miteinander verglichen (Abb. 6B). Der in der Uteruswirkung zum Ausdruck gekommene Adrenalingehalt von 0,075 γ würde am Blutdruck nicht in Erscheinung treten. Die Extrakte müßten deshalb blutdruckunwirksam sein, wenn sie nicht neben Adrenalin noch eine andere Substanz enthielten, die — wie Arterenol — bei praktisch nicht ins Gewicht fallender Uteruswirksamkeit eine im Vergleich mit Adrenalin wesentlich stärkere blutdrucksteigernde Wirkung besitzt. Der Froschherzextrakt *ist*, wie aus der Abb. 6B hervorgeht, am Katzenblutdruck unwirksam, da er keine andere wirksame Substanz als Adrenalin enthält. Die verschieden starke Blutdruckwirkung der anderen Herzextrakte wird zum Gradmesser ihres relativen Arterenolgehaltes: je stärker die blutdrucksteigernde Wirkung, um so höher der prozentuale Arterenolgehalt, um so niedriger der prozentuale Adrenalingehalt und umgekehrt. So müssen die beiden untersuchten Rinderherzextrakte (R_1 und R_2) ebenso wie der Schweine (S)- und der Menschenherzextrakt M_1 einen wesentlich höheren Prozentgehalt an Arterenol aufweisen als der Menschenherzextrakt M_2 und vor allem der Kaninchenherzextrakt K, in denen andererseits der relative Adrenalinanteil ein höherer sein muß.

In Übereinstimmung hiermit stehen die Versuchsergebnisse am gelagerten Kaninchendarm (Abb. 6C). An diesem Testobjekt, das, wie der Katzenblutdruck, nur mit einer anderen „ratio" empfindlicher auf Arterenol als auf Adrenalin reagiert, wurden die Extrakte in doppelt so hoher Dosierung wie an Uterus und Blutdruck zur Einwirkung gebracht. Das in entsprechend höherer Dosierung gegebene Adrenalin — nicht 0,075 γ wie am Uterus, sondern 0,15 γ — verursacht eine geringfügige, aber deutliche Hemmung. Die praktisch vollkommene Übereinstimmung der Darmwirkung des Froschherzextraktes (F) mit der Adrenalinwirkung (Adr.) spricht wiederum dafür, daß Adrenalin das einzige Sympathikomimetikum des Froschherzens ist. — Wie in der Abb. 6B das Ausmaß der *Blutdrucksteigerung*, so wird in 6C das die Wirkung der Vergleichsdosis Adrenalin übersteigende Ausmaß der *Darmhemmung* zum Indikator des relativen Arterenolgehaltes der Extrakte. Die für die einzelnen Extrakte bestehende Korrespondenz zwischen Blutdruck- und Darmwirksamkeit: M_1 und R_1 sind gleich blutdruck- und darmwirksam, beide sind wirksamer als S und M_2, andererseits unterscheiden sich S und M_2 ihrerseits wiederum an beiden Testobjekten deutlich und gleichsinnig voneinander, — diese Übereinstimmung der Wirksamkeit in zwei verschiedenen „tests" spricht erneut für die Richtigkeit der oben gezogenen Folgerungen.

5. Adrenalin- und Arterenolgehalt der Herzextrakte in absoluten Werten.

Die in den Abbildungen dargestellten Versuche konnten naturgemäß nur Beispiele für Einzelergebnisse geben. Auch bei einer Betrachtung des aus sämtlichen Einzelversuchen ableitbaren Gesamtergebnisses, das die Tab. 2 wiedergibt, ändert sich nichts an dem wichtigsten, sozusagen „qualitativen" Befund, daß nämlich mit Ausnahme des Froschherzens in den Herzextrakten aller anderen Tierarten und des Menschen neben Adrenalin auch Arterenol nachgewiesen werden kann. Wir haben schon darauf hingewiesen, daß bei den einzelnen Tierarten, so besonders bei Kaninchen und Meerschweinchen, erhebliche Schwankungen des mengenmäßigen Anteils der beiden Wirkstoffe an der Gesamtwirkung bestehen, so daß ein Urteil über die vielleicht von Tierart zu Tierart verschiedenen und artspezifischen quantitativen Verhältnisse und Unterschiede nur auf Grund einer größeren Anzahl von Einzelversuchen mit Herzmuskulatur ein- und derselben Tierart möglich ist.

Tabelle 2. *Adrenalin- und Arterenolgehalt tierischer Herzmuskelextrakte.*

Tierart	Arterenol in %	Adrenalin in %	Arterenol in γ/10 g Gewebe	Adrenalin in γ/10 g Gewebe	Zahl der Versuche
Rind	77—93	7—23	1,50—2,60	0,20—0,45	8
Schwein . . .	77—92	8—23	2,93—4,87	0,29—1,05	7
Kaninchen . .	65—92	8—35	1,68—5,44	0,45—0,94	11
Meerschweinchen	67—85	15—35	4,33—10,52	1,8—2,21	10
Frosch	—	100	—	50,0 —83,0	3

Wenn unser eigenes, in der Tab. 2 aufgeführtes Versuchsmaterial auch zu klein ist, um ein bindendes Urteil in dieser Beziehung abzugeben, so läßt sich aus der Zusammenstellung des prozentualen Mengenverhältnisses in der 1. und 2. Spalte doch mit Sicherheit entnehmen, daß bei allen Säugetieren der ganz überwiegende Teil der sympathikomimetischen Wirksamkeit der Herzextrakte auf *Arterenol* entfällt, und mit einiger Wahrscheinlichkeit, daß bei *Kaninchen* und *Meerschweinchen* wenigstens in manchen Fällen der prozentuale Adrenalinanteil etwas höher liegt als bei den anderen Tierarten. Das wäre insofern von besonderem Interesse, als auch andere Befunde dafür sprechen, daß die Arterenol in Adrenalin überführende Methylierung bei diesen beiden Tierarten besonders gut funktioniert; so z. B. die schon erwähnte, früher von uns[2] gemachte Beobachtung, daß gerade bei Kaninchen und Meerschweinchen — im Gegensatz zu anderen Tierarten — das Nebennierenmarkinkret nicht aus einem Gemisch von Adrenalin und Arterenol, sondern aus reinem Adrenalin besteht.

Besondere Beachtung beansprucht die in der 3. und 4. Spalte der Tabelle gegebene Übersicht über die *absoluten* Wirkstoffmengen im Herzextrakt bei den einzelnen Tierarten. Danach scheint ein deutlicher Zusammen-

hang zu bestehen zwischen der Tiergröße und dem Herzgewicht *einerseits*, sowie der Wirkstoffmenge pro g Herzgewebe *andererseits*: je kleiner die Tierart und das Herzgewicht, um so höher der Wirkstoffgehalt pro Gewichtseinheit Herzmuskulatur. Legt man die Höchstwerte für Arterenol, das in 10 g Gewebe enthalten ist und den Hauptanteil an Sympathikomimetikum darstellt, zugrunde, so ergibt sich ein stetiges Ansteigen der Werte in der Reihenfolge Rind — Schwein — Kaninchen — Meerschweinchen.

Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen.

Versuche mit Herzextrakten haben zu dem Ergebnis geführt, daß an der sympathikomimetischen Wirkung der Extrakte bei allen untersuchten Säugetieren und beim Menschen Adrenalin und Arterenol in wechselndem Mengenverhältnis beteiligt sind. Der Anteil des Arterenols an der Gesamtwirkung war im allgemeinen größer als der des Adrenalins. Ein grundsätzlich anderes Verhalten zeigten Froschherzextrakte. Sie verhielten sich an den verschiedenen Testobjekten wie reine Adrenalinlösungen. Dieser letztgenannte Befund, der eine Bestätigung der mit anderen Methoden erhaltenen Untersuchungsergebnisse früherer Autoren darstellt, ist, wie wir glauben, von ganz besonderer Bedeutung für die Beantwortung der Frage nach der *Herkunft* der beiden postmortal im *Säugetierherzen* nachweisbaren Sympathikomimetika und nach der zu Lebzeiten von ihnen ausgeübten *Funktion*.

Unsere heute geltenden Vorstellungen von der chemischen Übertragung sympathischer Nervenerregungen erhielten bekanntlich ihre erste experimentelle Fundierung durch die Versuche Otto Loewis[19] am Froschherzen, in denen die elektrische Stimulierung des Vago-sympathikus in Abhängigkeit von der jahreszeitlich bedingten vegetativen Tonuslage zum Freiwerden eines adrenalinähnlichen Stoffes führte, den Loewi „Acceleransstoff" nannte. Loewi[20] selbst konnte dann später Belege dafür erbringen, daß der „Acceleransstoff" des Froschherzens tatsächlich mit Adrenalin identisch ist. Untersuchungen anderer Autoren[20a] bestätigten das, wie ja auch die Ergebnisse unserer eigenen Versuche dafür sprechen, daß die sympathikomimetische Wirksamkeit von Froschherzextrakten ausschließlich durch Adrenalin verursacht ist.

Den ersten Hinweis, daß — im Gegensatz zum Froschherzen — am *Säugetier*herzen Adrenalin *nicht* der einzige Stoff sein kann, der bei der Erregung der sympathischen Herznerven in Freiheit gesetzt wird, gaben Versuche von Cannon und Rosenblueth[21] an Katzen unter gleichzeitiger Registrierung von Nickhaut- und Uterusmotorik. Bei der elektrischen Stimulierung der Nn. accelerantes kam es nur zu einer Kontraktion der Nickhaut, während die Injektion einer Adrenalindosis, welche eine vergleichbare Wirkung an der Nickhaut hatte, daneben die Uterusmuskulatur zur Erschlaffung brachte, Das unter diesen Umständen in Aktion tretende, humoral zur Wirkung gelangende „Sympathin" unterschied sich also von Adrenalin darin, daß es bei gleicher „excitatorischer" Wirkung auf die Nickhaut eine schwächere oder überhaupt keine „inhibitorische" Wirksamkeit (am Uterus) besaß. Bei höherer Reizintensität führte jedoch auch die elektrische Stimulierung der Nn. accelerantes zu einer adrenalinähnlichen Hemmung des Uterus, sodaß die von

Cannon gezogene Schlußfolgerung nahegelegt wurde, daß schwache Reizintensitäten nur „Sympathin E" — nach unseren heutigen Kenntnissen Arterenol —, stärkere Reizintensitäten außerdem noch „Sympathin I" — Adrenalin — freisetzen.

In früheren Arbeiten haben wir[22] die Möglichkeit diskutiert, den schon anderthalb Jahrzehnte zurückliegenden Befunden der amerikanischen Forscher eine andere Deutung zu geben, indem wir darauf hinwiesen, daß in bezug auf „excitatorische" und „inhibitorische" Wirksamkeit kein prinzipieller, sondern nur ein gradueller Unterschied zwischen Adrenalin und Arterenol bestehe, Arterenol in gleicher Weise wie Adrenalin, nur allerdings erst in höherer Dosierung auch inhibitorische Wirkungen z. B. am Uterus auszuüben vermöge, so daß es zur Erklärung der während einer elektrischen Stimulierung der Nn. accelerantes mit höheren Reizintensitäten auftretenden Erscheinungen — Kontraktion der Nickhaut *und* Hemmung des Uterus — nicht unbedingt notwendig sei, die Freisetzung zweier *verschiedener* Sympathine, eines mit *Arterenol* identischen excitatorischen und eines mit *Adrenalin* identischen inhibitorischen anzunehmen. Die auftretenden Wirkungen würden sich vielmehr mit dem Freiwerden nur *eines* Sympathins, nämlich des Arterenols, befriedigend erklären lassen: die bei schwacher Reizung freiwerdenden *kleinen* Arterenolmengen würden bei dem überwiegend „excitatorischen" Charakter der Substanz nur eine Kontraktion der Nickhaut verursachen, die bei starker Reizung freiwerdenden *großen* Mengen ausreichen, nun auch inhibitorische Wirkungen am Uterus hervorzurufen. Diese Deutung hätte sich sodann darauf berufen können, daß auch in anderen Bereichen sympathischer Innervation offenbar Arterenol der Überträgerstoff der Nervenerregung ist: die schon vor Jahren von uns[5] gefundenen Beziehungen zwischen Arterenolgehalt des Harns und *Hypertonie* und der durch die Untersuchungen v. Eulers[23] erwiesene hohe Arterenolgehalt der Milznerven sprachen für den „*arterenergischen*" Charakter der sympathischen, insbesondere der Gefäßinnervation. Bei einer ausschließlich arterenergischen Innervation auch des Säugetierherzens hätte eine Identität von Arterenol und Acceleransstoff postuliert werden müssen.

Untersuchungen[4, 7] unseres Instituts am Menschen haben gezeigt, daß Arterenol bei subkutaner oder intravenöser Injektion im Gegensatz zu Adrenalin eine ausgesprochene *Bradykardie* verursacht. Es würde deshalb fast als „contradictio in adjecto" erscheinen, wollte man dem bradykardischen Arterenol die Funktion des Acceleransstoffs zuschreiben. Wenn wir[22] das in früheren Darstellungen trotzdem zu tun versucht haben, so geschah das mit der Erwägung, daß, im Gegensatz zu dem nach subkutaner oder intravenöser Injektion *hämatogen* zur Wirkung gelangenden und dann durch die Erregung vagaler Reflexzentren des Herzens eine atropinempfindliche Bradykardie bewirkenden Arterenol, der *physiologisch* an den Acceleransendigungen in kleinen Mengen freiwerdende Wirkstoff, weil er mit den vagalen Reflexzentren vielleicht gar nicht in wirksamer Konzentration in Berührung kommt, als „Acceleransstoff" eine reine Tachykardie hervorrufen müßte, gleichwie man das auch nach der *Injektion* von Arterenol beobachtet, wenn vorher der Vagus durch Atropin ausgeschaltet ist.

Der Befund jedoch, daß wie das Säugetierherz so auch das menschliche Herz — im Gegensatz zum Herzmuskel des Frosches als der einzigen Ausnahme in der Tierreihe — beide Sympathikomimetika: Adrenalin und Arterenol enthält, legt eine andere Deutung nahe: daß nämlich dem im Herzextrakt sämtlicher Tierarten sich findenden *Adrenalin* zu Lebzeiten die Funktion des *Acceleransstoffes* zukam, dem *Arterenol* der Extrakte hingegen die Funktion des chemischen Überträgers sympathischer

Nervenerregungen im Bereich der *Koronargefäße*. Es wäre dann verständlich, daß in Froschherzextrakten kein Arterenol nachweisbar ist, da das Froschherz kein Koronargefäßsystem besitzt.

Zusammenfassung.

Eiweißfreie und durch Adsorption an Aluminiumhydroxyd angereicherte Extrakte aus Herzmuskulatur verschiedener Tierarten und des Menschen werden an 4 biologischen Testobjekten — Katzenblutdruck Rattenuterus, Kaninchenileum „frisch" und „gelagert" — auf ihren Gehalt an *Adrenalin* und *Arterenol* untersucht.

1. Im Herzmuskelextrakt sämtlicher untersuchter Säugetiere und des Menschen lassen sich beide Sympathikomimetika nachweisen. Die sympathikomimetische Wirksamkeit beruht jedoch ganz überwiegend auf dem Arterenolgehalt. Bei *Kaninchen* und *Meerschweinchen* scheint *Adrenalin* in höherem Prozentsatz als bei anderen Tierarten an der Gesamtwirkung beteiligt zu sein, wie auch andere Befunde dafür sprechen, daß die dem Übergang Arterenol — Adrenalin zugrundeliegende Methylierung bei diesen beiden Tierarten besonders gut funktioniert. — Froschherzextrakte enthalten nur Adrenalin.

2. Der Arterenolgehalt *pro Gewichtseinheit* Herzmuskulatur nimmt mit abnehmender Tiergröße und abnehmendem Herzgewicht in der Reihenfolge Rind, Schwein, Kaninchen, Meerschweinchen zu.

3. Es wird angenommen, daß das *Adrenalin* der Herzextrakte zu Lebzeiten die Funktion des *Acceleransstoffes* ausübte, das *Arterenol* der Extrakte die Funktion des chemischen *Überträgerstoffes* an den sympathischen Nervenendigungen im Bereich der Koronargefäße. Es würde dann verständlich, daß 1. der absolute Arterenolgehalt pro g Gewebe in der Tierreihe mit abnehmendem Herzgewicht, d. h. zunehmendem Kapillarquerschnitt ansteigt, 2. das *Froschherz* kein Arterenol enthält, da es kein Koronargefäßsystem besitzt.

Fräulein Charlotte Carsten haben wir wiederum für verständnisvolle Mitarbeit zu danken.

Literatur.

[1] Holtz, P., K. Credner u. G. Kroneberg: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 228 (1944/47). — Kroneberg, G., u. H. J. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 350 (1950). — Holtz, P., G. Kroneberg u. H. J. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 364 (1950). — [2] Holtz, P., u. H. J. Schümann: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 1 (1950). — Nature (Lond.) **165**, 683 (1950). — Arch. internat. Pharmacodynamie **83**, 417 (1950). — [3] Schümann, H. J.: Klin. Wschr. **1948**, 605. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 340 (1950). — [4] Kroneberg, G.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 169 (1948/49). — [5] Holtz, P., u. K. Credner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **204**, 244 (1944/47). — Holtz, P.: Klin. Wschr. **1946**, 65. — [6] Holtz, P.: Klin. Wschr. **1949**, 64. — [7] Kroneberg, G., u. G. Rönicke: Verhandl. d. dtsch. Pharmakolog. Ges. **1948**, Düsseldorf. — Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 169 (1949). — Klin. Wschr. **1950**, 353. — [8] Euler,

U. S. v.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **12**, 73 (1946). — [9] Bacq, Z. M., u. P. Fischer: Arch. internat. Physiol. **55**, 73 (1947). — [10] Euler, U. S. v.: Festschrift f. Prof. Dr. E. Rothlin, S. 129. Basel: Benno Schwabe 1948/49. — [11] de Jalon, P. G., u. a.: Farmakoterap. actual. **2**, 313 (1945). — [12] Schümann, H. J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **206**, 164 (1949). — [13] Schümann, H. J.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **209**, 340 (1950). — [14] Bülbring, E.: Brit. J. Pharmacol. and Chemotherapy **4**, 234 (1949). — [15] Euler, U. S. v.: Acta Physiol. scand. (Stockh.) **19**, 207 (1949). — [16] Gaddum, J. H., u. H. Kwiatowski: J. of Physiol. **94**, 87 (1938). — [17] Gaddum, J. H., u. H. Schild: J. of Physiol. **80**, 9 (1934). — [18] Barger, G., and H. H. Dale: J. of Physiol. **41**, 19 (1910). — [19] Loewi, O.: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921). — [20] Loewi, O.: Pflügers Arch. **237**, 504 (1936). — [20a] Cannon, W. B., and K. Lissak: Amer. J. Physiol. **125**, 765 (1939). — Euler, U. v.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **12**, 73 (1946). — [21] Cannon, W. B., and A. Rosenblueth: Amer. J. Physiol. **104**, 557 (1933). — [22] siehe P. Holtz: Pharmazie **1950**, 49. — Klin. Wschr. **1950**, 145. — [23] Euler, U. S. v.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **12**, 73 (1946).